

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

COMENTARIOS

Con fundamento en el numeral 6.3.3.1 de la Norma Oficial Mexicana NOM-001-SSA1-2020, se publica el presente proyecto a efecto de que los interesados, a partir del 1º de mayo y hasta el 30 de junio de 2022, lo analicen, evalúen y envíen sus observaciones o comentarios en idioma español y con el sustento técnico suficiente ante la CPFEUM, sito en Río Rhin número 57, colonia Cuauhtémoc, código postal 06500, Ciudad de México.

Correo electrónico: consultas@farmacopea.org.mx.

DATOS DEL PROMOVENTE

Nombre: _____
Institución o empresa: _____
Teléfono: _____

Cargo: _____
Dirección: _____
Correo electrónico: _____

EL TEXTO EN COLOR ROJO HA SIDO MODIFICADO

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>ERITROPOYETINA HUMANA RECOMBINANTE</p> <p>Esta monografía aplica tanto al biofármaco como al medicamento biotecnológico. La eritropoyetina humana recombinante está conformada por una familia de glicoproteínas muy relacionadas que son indistinguibles de la eritropoyetina humana natural (eritropoyetina urinaria) en términos de su secuencia de aminoácidos (165 aminoácidos, véase <i>Figura 1</i>) y patrón general promedio de glicosilación. La eritropoyetina humana natural es una hormona glicoprotéica producida principalmente, pero no exclusivamente, en los riñones. La eritropoyetina estimula la eritropoyesis y en su forma recombinante se produce <i>in vitro</i> a partir del cultivo de células de mamíferos, en las cuales se ha insertado el gen que codifica la eritropoyetina humana.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p><i>Figura 1.</i> Secuencia de aminoácidos de eritropoyetina.</p> <pre> APPRLICDSR VLERYLLEAK EAENITTGCA EHCSLNENIT VPDTKVNIFYA WKRMEVGGQQ VEVWQGLALL SEAVLRGQAL LVNSSQPWEP LQLHVDKAVS GLRSLTLLR ALGAQKEAIS PPGAASAAPL RTITADTFRK LFRVYSNFLR GKLKLYTGEA CRTGD </pre> <p><i>Nota:</i> Las líneas representan puentes disulfuro.</p>		
BIOFÁRMACO		
<p>DESCRIPCIÓN. El biofármaco se presenta como una solución concentrada, incolora, clara o ligeramente opalescente, libre de partículas.</p>		
<p>ENSAYOS DE IDENTIDAD Deberán aplicarse una de las siguientes alternativas, comparando con una preparación de referencia. Alternativa uno: A, B, C y D. Alternativa dos: A, B, C, D y E.</p>		
<p>A. Potencia. Cumple los requisitos de acuerdo al método A o B, descritos en la sección de biofármaco de esta monografía.</p>		
<p>B. Electroforesis capilar. MGA 0312, ECZ. Preparación de la muestra. Diluir la preparación de la muestra con agua hasta obtener una concentración de 1 mg/mL. Desalar 0.25 mL de</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>esta solución por paso a través de un cartucho microconcentrador provisto de una membrana con un límite de exclusión de masa molecular no superior a 10 000 Da. Añadir a la muestra 0.2 mL de agua y desalar de nuevo. Repetir una vez más el proceso de desalación. Diluir la muestra con agua, determinar la concentración de proteínas y ajustarla con agua hasta una concentración de aproximadamente 1 mg/mL.</p> <p>Preparación de referencia. Disolver el contenido de un vial de SRef de eritropoyetina en 0.25 mL de agua. Proseguir la desalación como se ha descrito para la preparación de la muestra.</p> <p>Capilar. De sílice fundida sin recubrir con diámetro interno de 50 µm y longitud útil de aproximadamente 100 cm.</p> <p>Temperatura. 35 °C.</p> <p>Solución amortiguadora concentrada. (cloruro de sodio 0.1 M, tricina 0.1 M, acetato de sodio 0.1 M). Disolver 0.584 g de cloruro de sodio, 1.792 g de tricina y 0.820 g de acetato de sodio anhidro en agua y diluir hasta 100.0 mL con el mismo disolvente.</p> <p>Solución de putrescina 1 M. Disolver 0.882 g de putrescina en 10 mL de agua. Distribuir en alícuotas de 0.5 mL.</p> <p>Solución amortiguadora. (Tricina 0.01 M, cloruro de sodio 0.01 M, acetato de sodio 0.01 M, urea 7 M, putrescina 2.5 mM). Disolver 21.0 g de urea en 25 mL de agua calentando suavemente en baño de agua a 30 °C. Añadir 5.0 mL de la solución</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>amortiguadora concentrada y 125 µL de solución de putrescina 1 M. Diluir hasta 50.0 mL con agua. Utilizando ácido acético diluido, ajustar hasta pH 5.55 a 30 °C y filtrar a través de una membrana de 0.45 µm.</p> <p>Detección. Espectrofotómetro a 214 nm. Ajustar el inyector de muestras automático para conservar la muestra a 4 °C durante el análisis.</p> <p>Preacondicionamiento del capilar. Lavar el capilar durante 60 min con hidróxido de sodio 0.1 M filtrado a través de una membrana filtrante de 0.45 µm y durante 60 min con solución amortiguadora. Aplicar voltaje (20 kV) durante 12 h.</p> <p>Lavado antes de cada análisis. Lavar el capilar con agua durante 10 min, con hidróxido de sodio 0.1 M filtrado a través de una membrana de 0.45 µm durante 5 min y con solución amortiguadora durante 10 min.</p> <p>Inyección. Bajo presión o a vacío.</p> <p>Migración. Aplicar un campo eléctrico de 143 V/cm (15.4 kV para capilares con una longitud total de 107 cm) durante 80 min, utilizando solución amortiguadora como electrolito en ambas celdas.</p> <p>Aptitud del sistema. En el electroferograma obtenido con la preparación de referencia, se observan picos claramente separados. El pico más alto debe ser al menos 50 veces mayor que el ruido de fondo. Si es necesario, ajustar la carga de inyección para obtener picos de suficiente altura. Identificar los picos correspondientes a las</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*												
<p>isoformas 1 a 8 (véase <i>Tabla 1</i>). La isoforma 1 puede no ser visible. Se detecta el pico correspondiente a la isoforma 8 y la resolución entre los picos correspondientes a las isoformas 5 y 6 no es inferior a 1. Repetir la separación como mínimo tres veces. Realizar el mismo procedimiento para la muestra. La línea base deberá ser estable, presentando poca desviación, y la distribución de los picos deberá ser cualitativa y cuantitativamente similar a la distribución de los picos en el electroferograma de la eritropoyetina de referencia. La desviación típica relativa del tiempo de migración del pico correspondiente a la isoforma 2 deberá ser inferior al 2 %.</p> <p>Límites. Identificar los picos correspondientes a las isoformas 1 a 8 en el electroferograma obtenido con la preparación de la muestra por comparación con el electroferograma obtenido con la preparación de referencia. Calcular el contenido en porcentaje de cada isoforma a partir del área del pico correspondiente. Los valores obtenidos se encuentran entre los intervalos listados en la <i>Tabla 1</i>.</p>														
<p><i>Tabla 1.</i> Porcentaje de isoformas en eritropoyetina.</p>														
<table border="1"> <thead> <tr> <th data-bbox="128 1198 275 1235">Isoforma</th> <th data-bbox="275 1198 478 1235">Contenido (%)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td data-bbox="128 1235 275 1273">1</td> <td data-bbox="275 1235 478 1273">0 a 15</td> </tr> <tr> <td data-bbox="128 1273 275 1310">2</td> <td data-bbox="275 1273 478 1310">0 a 15</td> </tr> <tr> <td data-bbox="128 1310 275 1347">3</td> <td data-bbox="275 1310 478 1347">1 a 20</td> </tr> <tr> <td data-bbox="128 1347 275 1385">4</td> <td data-bbox="275 1347 478 1385">10 a 35</td> </tr> <tr> <td data-bbox="128 1385 275 1422">5</td> <td data-bbox="275 1385 478 1422">15 a 40</td> </tr> </tbody> </table>	Isoforma	Contenido (%)	1	0 a 15	2	0 a 15	3	1 a 20	4	10 a 35	5	15 a 40		
Isoforma	Contenido (%)													
1	0 a 15													
2	0 a 15													
3	1 a 20													
4	10 a 35													
5	15 a 40													

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>6 10 a 35 7 5 a 25 8 0 a 15</p>		
<p>C. Electroforesis en gel de poliacrilamida, electrotransferencia e inmunodetección.</p>		
<p>(a) Electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS. MGA 0311. Dimensiones del gel. 0.75 mm de espesor, aproximadamente 16 cm de altura. Gel de resolución. Poliacrilamida al 12 %. Solución amortiguadora para muestras. Disolver 1.89 g de tris(hidroximetil)aminometano, 5.0 g de laurilsulfato de sodio y 50 mg de azul de bromofenol en agua. Añadir 25.0 mL de glicerol y diluir hasta 100 mL con agua. Ajustar el pH a 6.8 con ácido clorhídrico y diluir hasta 125 mL con agua. Preparación de la muestra 1. Diluir la preparación a examinar en agua hasta obtener una concentración de 1.0 mg/mL. A un volumen de esta solución añadir un volumen de la solución amortiguadora para muestras. Preparación de la muestra 2. Diluir la preparación a examinar en agua hasta obtener una concentración de 0.1 mg/mL. A un volumen de esta solución añadir un volumen de la solución amortiguadora para muestras. Preparación de referencia 1. Disolver el contenido de un vial de SRef de eritropoyetina para pruebas fisicoquímicas (0.1 mg) en 0.1 mL de agua para obtener una concentración de 1.0 mg/mL. A</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>un volumen de esta solución añadir un volumen de la solución amortiguadora para muestras.</p> <p>Preparación de referencia 2. Disolver el contenido de un vial de eritropoyetina SRef en agua y diluir con el mismo disolvente hasta obtener una concentración de 0.1 mg/mL. A un volumen de esta solución añadir un volumen de la solución amortiguadora para muestras.</p> <p>Preparación de referencia 3. Una solución de marcadores de masa molecular en el intervalo de 10 a 70 kDa para calibrar los geles de poliacrilamida con SDS.</p> <p>Preparación de referencia 4. Una solución de marcadores de masa molecular en el intervalo de 10 a 70 kDa previamente teñidos para calibrar los geles de poliacrilamida con SDS y adecuados para la electrotransferencia a una membrana apropiada.</p> <p>Tratamiento de las muestras. Calentar a ebullición durante 2 min.</p> <p>Aplicación. 20 µL, en el siguiente orden: preparación de referencia 3, preparación de referencia 1, preparación de la muestra 1, pozo vacío, preparación de referencia 2, preparación de la muestra 2 y preparación de referencia 4. Al final de la separación, sacar el gel del aparato y cortar en dos partes, conteniendo la primera parte la preparación de referencia 3, la preparación de referencia 1 y la preparación de la muestra 1 y la segunda parte la preparación de referencia 2, la preparación de la muestra 2 y la preparación de referencia 4.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Detección. Tinción con azul de Coomassie sobre la primera parte del gel.</p> <p>Aptitud del sistema. Preparación de referencia 3: se satisfacen los criterios de validación del método.</p> <p>Resultados. El electroferograma obtenido con la preparación de la muestra 1 presenta una única banda difusa correspondiente en posición e intensidad a la única banda observada en el electroferograma obtenido con la preparación de referencia 1.</p>		
<p>(b) Electrotransferencia e inmunodetección. Transferir la segunda parte del gel a una membrana adecuada para la inmovilización de proteínas, utilizando un equipo comercial de electrotransferencia adecuado y siguiendo las instrucciones del fabricante. Después de la electrotransferencia, incubar la membrana en una solución amortiguadora isotónica neutra que contenga un agente bloqueante adecuado (por ejemplo, 50 g/L de leche descremada en polvo o suero fetal de bovino al 10 % v/v), durante 1 a 2 h, seguida de incubación durante 1 a 14 h en la misma solución de bloqueo con una dilución adecuada de anticuerpo policlonal o monoclonal anti-eritropoyetina. Detectar el anticuerpo unido a la eritropoyetina utilizando un anticuerpo marcado adecuado (por ejemplo, un segundo anticuerpo conjugado con fosfatasa alcalina).</p> <p>Aptitud del sistema. En el electroferograma obtenido con la preparación de referencia 4, los marcadores de la masa molecular aparecen sobre</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>la membrana en bandas individuales, con una relación lineal entre la distancia de migración y el \log_{10} de la masa molecular.</p> <p>Resultados. El electroferograma obtenido con la preparación de la muestra 2 presenta una única banda ancha correspondiente en posición e intensidad a la única banda observada en el electroferograma obtenido con la preparación de referencia 2.</p>		
<p>D. Mapeo de péptidos. MGA 0241, CLAR-0536.</p> <p>Preparación de la muestra. Diluir la preparación a examinar en solución amortiguadora de tris-acetato pH 8.5 hasta una concentración de 1.0 mg/mL. Equilibrar la solución en solución amortiguadora de tris-acetato pH 8.5 utilizando un procedimiento adecuado (diálisis frente a la solución amortiguadora de tris-acetato pH 8.5, o la filtración a través de membrana usando el procedimiento descrito en Ensayo de identidad B, pero reconstituyendo la muestra desalada con solución amortiguadora de tris-acetato pH 8.5). Transferir la solución dializada a un tubo de centrifuga de polipropileno. Preparar en el momento una solución de tripsina grado secuenciación a una concentración de 1 mg/mL en agua y añadir 5 μL a 0.25 mL de la solución dializada. Tapar el tubo y colocarlo en baño de agua a 37 °C durante 18 h. Sacar la muestra del baño de agua y parar inmediatamente la reacción mediante congelación.</p> <p>Preparación de referencia. Disolver el contenido de un vial de eritropoyetina SRef en agua hasta</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*																
<p>obtener una concentración de 1.0 mg/mL. Preparar de la misma manera que la muestra, procurando que todos los procesos se realicen simultáneamente y en idénticas condiciones.</p> <p>Fase estacionaria. Gel de sílice butilsililada para cromatografía (5-10 μm).</p> <p>Fase móvil A. Solución al 0.06 % (v/v) de ácido trifluoroacético.</p> <p>Fase móvil B. A 100 mL de agua añadir 0.6 mL de ácido trifluoroacético y diluir hasta 1 000 mL con acetonitrilo para cromatografía.</p> <p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con un detector UV a 214 nm y una columna de 4.6 mm \times 25 cm. Programar el cromatógrafo de acuerdo a la <i>Tabla 2</i>.</p> <p>Acondicionamiento. En las condiciones iniciales durante al menos 15 min. Realizar un ensayo en blanco utilizando el gradiente indicado en la <i>Tabla 2</i>.</p> <p>Inyección. 50 μL.</p> <p>Aptitud del sistema. Los cromatogramas obtenidos con la preparación de la muestra y la preparación de referencia son cualitativamente similares.</p>																		
<p><i>Tabla 2.</i> Gradiente para mapeo de péptidos.</p>																		
<table border="1"> <thead> <tr> <th>Tiempo (min)</th> <th>Flujo (mL/min)</th> <th>Fase móvil A(% v/v)</th> <th>Fase móvil B(% v/v)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>0 – 10</td> <td>0.75</td> <td>100</td> <td>0</td> </tr> <tr> <td>10 – 125</td> <td>0.75</td> <td>100 \rightarrow 39</td> <td>0 \rightarrow 61</td> </tr> <tr> <td>125 – 135</td> <td>1.25</td> <td>39 \rightarrow 17</td> <td>61 \rightarrow 83</td> </tr> </tbody> </table>	Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	Fase móvil A(% v/v)	Fase móvil B(% v/v)	0 – 10	0.75	100	0	10 – 125	0.75	100 \rightarrow 39	0 \rightarrow 61	125 – 135	1.25	39 \rightarrow 17	61 \rightarrow 83		
Tiempo (min)	Flujo (mL/min)	Fase móvil A(% v/v)	Fase móvil B(% v/v)															
0 – 10	0.75	100	0															
10 – 125	0.75	100 \rightarrow 39	0 \rightarrow 61															
125 – 135	1.25	39 \rightarrow 17	61 \rightarrow 83															

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
135 – 1.25 17 → 0 83 → 100 145 145 – 1.25 100 0 150		
<p>Resultados. El perfil del cromatograma obtenido con la preparación de la muestra corresponde cualitativamente al del cromatograma obtenido con la preparación de referencia.</p>		
<p>E. Análisis de la secuencia N-terminal. Los primeros 15 aminoácidos son: Ala-Pro-Pro-Arg-Leu-Ile-(pico no recuperado)-Asp-Ser-Arg-Val-Leu-Glu-Arg-Tyr. Realizar la degradación de Edman en un secuenciador automático en fase sólida, trabajando de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Desalar el equivalente a 50 µg de eritropoyetina. Por ejemplo, diluir un volumen de la preparación a examinar equivalente a 50 µg del biofármaco en 1 mL de una solución al 0.1 % (v/v) de ácido trifluoroacético. Pre lavar un cartucho de preparación de muestra en fase reversa C18 de acuerdo con las instrucciones suministradas y equilibrar el cartucho en una solución al 0.1 % (v/v) de ácido trifluoroacético. Aplicar la muestra al cartucho y lavar sucesivamente con soluciones al 0.1 % (v/v) de ácido trifluoroacético que contengan: 0, 10 y 50 % (v/v) de acetonitrilo, de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Liofilizar el eluato de acetonitrilo al 50 % (v/v). Redisolver la muestra desalada en 50 µL de una solución al 0.1 % (v/v) de ácido trifluoroacético y acoplar al cartucho de</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>secuenciación siguiendo el protocolo proporcionado por el fabricante. Realizar 15 ciclos de secuenciación, utilizando las condiciones de reacción para la prolina cuando se realizan el 2.º y el 3.º ciclos. Identificar los complejos feniltiohidantoína (PTH)-aminoácidos liberados en cada ciclo de secuenciación por cromatografía de líquidos en fase reversa. El procedimiento puede efectuarse utilizando la columna y los reactivos recomendados por el fabricante del equipo de secuenciación para la separación de los complejos PTH-aminoácidos. El procedimiento de separación se calibra utilizando la mezcla de los complejos PTH-aminoácidos proporcionada por el fabricante del secuenciador, con las condiciones de gradiente ajustadas como se indica para lograr la resolución óptima de todos los aminoácidos y una muestra obtenida a partir de un ciclo de secuenciación en blanco obtenido como recomienda el fabricante del equipo.</p>		
<p>ENDOTOXINAS BACTERIANAS. MGA 0316. Menor o igual a 20 UI de endotoxina por 100.000 unidades de Eritropoyetina.</p>		
<p>PROTEÍNA TOTAL. MGA 0611. Entre 80 y 120 % (m/v) del límite especificado por el fabricante.</p>		
<p>DÍMEROS Y SUSTANCIAS RELACIONADAS DE ALTO PESO MOLECULAR. MGA 0241, <i>Cromatografía de exclusión por tamaño molecular.</i> Fase móvil. Disolver 1.15 g de fosfato dibásico de</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>sodio anhidro, 0.2 g de fosfato monobásico de potasio y 23.4 g de cloruro de sodio en un litro de agua (fosfato monobásico de potasio 1.5 mM, fosfato dibásico de sodio 8.1 mM, cloruro de sodio 0.4 M, pH 7.4); si es necesario ajustar a pH 7.4.</p> <p>Preparación de la muestra. Diluir la preparación a examinar en la fase móvil hasta obtener una concentración de 0.2 mg/mL.</p> <p>Preparación de referencia. A 0.02 mL de la preparación de la muestra añadir 0.98 mL de la fase móvil.</p> <p>Condiciones del equipo. Cromatógrafo de líquidos equipado con un detector UV a 214 nm, columna de 7.5 mm × 60 cm, fase estacionaria de gel de sílice hidrófila para cromatografía R, de una calidad adecuada para el fraccionamiento de proteínas globulares con un intervalo de masa molecular relativa de 20 000 a 200 000 Da, velocidad de flujo de 0.5 mL/min. Inyección de 100 µL y tiempo de registro como mínimo 1 h.</p> <p>Aptitud del sistema. El área del pico principal del cromatograma obtenido con la preparación de referencia es del 1.5 al 2.5 % del área del pico principal del cromatograma obtenido con la preparación de la muestra.</p> <p>Límites. El total de las áreas de todos los picos eluidos antes del pico principal no es mayor que el área del obtenido en el cromatograma de la preparación de referencia (2 %).</p>		
<p>ÁCIDOS SIÁLICOS. No es menor que 10 moles de ácidos siálicos (calculado como ácido N-</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>acetilneuramínico) por mol de eritropoyetina.</p> <p>Preparación de la muestra 1. Diluir la preparación a examinar en la fase móvil utilizada en la prueba de <i>Dímeros y sustancias relacionadas de alto peso molecular</i> hasta obtener una concentración de 0.3 mg/mL de eritropoyetina.</p> <p>Preparación de la muestra 2. A 0.5 mL de la preparación de la muestra 1 adicionar 0.5 mL de la fase móvil usada en la prueba de <i>Dímeros y sustancias relacionadas de alto peso molecular</i>.</p> <p>Preparación de referencia 1. Disolver la cantidad necesaria de ácido <i>N</i>-acetilneuramínico en agua para obtener una concentración de 0.1 mg/mL.</p> <p>Preparación de referencia 2. A 0.8 mL de la preparación de referencia 1 añadir 0.2 mL de agua.</p> <p>Preparación de referencia 3. A 0.6 mL de la preparación de referencia 1 añadir 0.4 mL de agua.</p> <p>Preparación de referencia 4. A 0.4 mL de la preparación de referencia 1 añadir 0.6 mL de agua.</p> <p>Preparación de referencia 5. A 0.2 mL de la preparación de referencia 1 añadir 0.8 mL de agua.</p> <p>Preparación de referencia 6. Utilizar agua.</p> <p>Procedimiento. Realizar el ensayo por triplicado. Transferir 100 µL de cada una de las preparaciones de muestra y de referencia a tubos de ensayo de vidrio de 10 mL. Añadir a cada tubo 1.0 mL de reactivo de resorcinol. Tapar los tubos e incubarlos a 100 °C durante 30 min. Enfriar en hielo. Adicionar a cada tubo 2.0 mL de una mezcla de butanol:acetato de butilo (12:48). Mezclar vigorosamente y dejar que las dos fases se</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>separen. Verificar que la fase superior es completamente límpida y separarla, teniendo cuidado de excluir completamente toda la fase inferior. Medir la absorbancia a 580 nm de todas las preparaciones. Utilizando la curva de calibración obtenida con las preparaciones de referencia, determinar el contenido de ácidos siálicos en las preparaciones de muestra 1 y 2, estimar la media. Calcular el número de moles de ácidos siálicos por mol de eritropoyetina, suponiendo que la masa molecular relativa de la eritropoyetina es 30.600 y que la masa molecular relativa del ácido <i>N</i>-acetilneuramínico es 309.</p> <p>Aptitud del sistema. Los valores obtenidos en cada repetición se diferencian en $\pm 10 \%$, el valor obtenido con la preparación de referencia 1 es entre 1.5 y 3.3 veces superior al obtenido con la preparación de la muestra 1.</p>		
<p>POTENCIA. No menos de 100 000 UI/mg, usando cualquiera de los métodos <i>A</i> o <i>B</i>.</p>		
<p>Método A. En ratones policitémicos Examinar la potencia de la preparación determinando en condiciones adecuadas, el efecto que tiene en la estimulación de incorporación de ^{59}Fe en los glóbulos rojos circulantes de ratones hechos policitémicos por exposición a presión atmosférica reducida.</p> <p>Inducción de policitemia. El siguiente método se ha encontrado efectivo usando cámaras hipobáricas: Inducir policitemia en cinco o seis ratones hembra</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>entre 16 y 18 g de la cepa CB6F1 o una cepa validada de respuesta adecuada de la hipoxia. Identificarlos empleando un marcador de orejas, al mismo tiempo pesar y revisar a los animales de forma individual. Permitir que se aclimaten a la presión atmosférica ambiental. Mantener a los ratones en una superficie mínima de 80 cm² en un contenedor reforzado de una altura máxima de 12 cm. Sellar los contenedores. Encender las bombas de vacío con las válvulas de aire ajustadas para que permitan que la presión dentro del contenedor descienda lentamente a 0.4 atm en 10 min, mientras se mantiene el flujo de aire por lo menos a 1.21 m³/h. Dejar los ratones a 0.4 atm durante 18 h. Quitar el vacío y permitir que la presión aumente lentamente a condiciones ambientales, aproximadamente durante 10 min. Sacar las cajas, pasar los ratones a cajas limpias y permitir que permanezcan a presión ambiental durante 6 h. Repetir la exposición hipobárica durante 18 h por un total de 14 días. Después de la última exposición hipobárica, permitir que los ratones permanezcan 72 h a presión ambiental. Clasificar los ratones en grupos de cinco o seis con un nivel de hematocrito posthipoxia similar.</p> <p>Preparación de la referencia y de las muestras. Disolver la referencia de eritropoyetina y muestras en SA de Salina-fosfatos-albúmina pH 7.2. Las concentraciones de las preparaciones de referencia y en prueba deberán ser definidas por el fabricante con base en la respuesta de los</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>animales usados.</p> <p>Solución concentrada de cloruro férrico radiactivo ⁵⁹Fe. Usar una solución comercial de cloruro férrico radiactivo ⁵⁹Fe (Actividad específica aproximada; entre 100 y 1 000 MBq/mg de Fe).</p> <p>Solución de cloruro férrico radiactivo ⁵⁹Fe. Diluir la solución concentrada de cloruro férrico radiactivo ⁵⁹Fe en SA de Citratos pH 7.8 para obtener una solución con una actividad de 3.7×10⁴ Bq/mL. Tres días después de regresar los animales a presión atmosférica, inyectar a cada animal intraperitonealmente con 0.5 mL de la solución correspondiente de referencia o muestra. Administrar una dosis adicional de 0.5 mL del mismo material, 24 h después. Inyectar a un grupo control de cinco ratones exhipóxicos, 0.5 mL de SA de salina-fosfatos-albúmina pH 7.2, y repetir la dosis a las 24 h.</p> <p>Incorporación del hierro radiactivo dentro de los eritrocitos. Después de 24 h de la segunda inyección de SA de Salina-fosfatos-albúmina pH 7.2, referencia y muestra, inyectar a cada ratón por vía intraperitoneal con 0.2 mL de SR de solución salina, conteniendo 0.3 % (m/v) de citrato trisódico y de 0.5 µCi a 1.0 µCi del isótopo ⁵⁹FeCl₃. El orden de las inyecciones debe ser el mismo que el de las inoculaciones de eritropoyetina, y el intervalo de tiempo entre las administraciones de la eritropoyetina y el hierro radiactivo debe ser el mismo para cada animal. Después de 48 h adicionales, inyectar un anestésico adecuado a</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>cada animal, determinar el peso corporal, y extraer muestras de sangre, enseguida colocar las muestras en tubos de hematocrito. Determinar el volumen del paquete de células, con la ayuda de un instrumento de lectura calibrado. Transferir una alícuota de 0.2 mL de cada muestra de sangre a tubos de vidrio de 12 x 75 mm y la radiactividad se determina en un contador gamma; de manera similar se determina la radiactividad contenida en 0.2 mL de solución inyectable de $^{59}\text{FeCl}_3$.</p> <p>Resultados. Registrar los resultados como el porcentaje del isótopo ^{59}Fe inyectado, incorporado en los eritrocitos y usar la siguiente fórmula:</p>		
<p>% Incorporación = $\frac{(R_m)(M)(7.5)}{(R_t)V_s} \times 100$</p>		
<p>Donde: R_m = Radioactividad en la muestra. R_t = Radioactividad total del material inyectado. 7.5 = Volumen total de sangre como por ciento del peso del cuerpo. M = Peso total de los ratones en gramos. V_s = Volumen de la muestra de sangre.</p>		
<p>Calcular la potencia por medio de los métodos estadísticos usuales para un análisis de líneas paralelas. Eliminar del cálculo cualquier animal donde el hematocrito es menor al 54 %, o donde el peso corporal es más de 24 g.</p>		
<p>Método B. En ratones normocitémicos El ensayo está basado en la medición de la estimulación de producción de reticulocitos en</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>ratones normocitémicos.</p> <p>El ensayo se puede llevar a cabo de acuerdo con el siguiente procedimiento:</p> <p>Preparación de la muestra 1. Diluir la sustancia a ser examinada en SA de fosfatos-albúmina-salina pH 7.2 para obtener una concentración de 80 UI/mL.</p> <p>Preparación de la muestra 2. Mezclar volúmenes iguales de la preparación de la muestra 1 y SA de fosfatos-albúmina-salina pH 7.2.</p> <p>Preparación de la muestra 3. Mezclar volúmenes iguales de la preparación de la muestra 2 y SA de fosfatos-albúmina-salina pH 7.2.</p> <p>Preparación de referencia 1. Disolver Eritropoyetina en SA de fosfatos-albúmina-salina pH 7.2 para obtener una concentración de 80 UI/mL</p> <p>Preparación de referencia 2. Mezclar volúmenes iguales de preparación de referencia 1 y SA de fosfatos-albúmina-salina pH 7.2.</p> <p>Preparación de referencia 3. Mezclar volúmenes iguales de preparación de referencia 2 y SA de fosfatos-albúmina-salina pH 7.2.</p> <p>Las concentraciones exactas de las preparaciones en prueba y referencia pueden ser modificadas, de acuerdo al intervalo de respuesta de los animales usados.</p> <p>Al inicio del procedimiento distribuir al azar ratones de ocho semanas de edad en seis jaulas de la cepa B6D2F1 o de otra cepa de respuesta adecuada. Se recomienda un mínimo de n = 8</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>(ocho ratones por tratamiento). Inyectar subcutáneamente cada animal con 0.5 mL del tratamiento apropiado (una solución por jaula) y colocar el animal en una jaula nueva. Reunir los ratones de manera que cada jaula contenga un ratón de cada uno de los seis tratamientos diferentes (tres preparaciones de prueba y tres preparaciones referencia, o sea, seis ratones por jaula). Cuatro días después de las inyecciones, coleccionar muestras de sangre de los animales y determinar el número de reticulocitos. El volumen de sangre, el procedimiento de dilución y el reactivo fluorescente pueden ser modificados para asegurar el revelado máximo y la estabilidad de la fluorescencia.</p> <p>Solución de colorante. Usar una solución de naranja de tiazol a una concentración del doble para la determinación de reticulocitos.</p> <p>Diluciones. Diluir la sangre completa 500 veces con la solución amortiguadora utilizada para preparar la solución de colorante. Diluir al doble esta solución, en la solución concentrada de colorante. Después de teñir durante 3 a 10 min, determinar el número de reticulocitos microfluorométricamente en un citómetro de flujo. Determinar el porcentaje de reticulocitos y usar un histograma biparamétrico: número de células/F1 rojo (620 nm). Calcular la potencia mediante los métodos estadísticos usuales para un ensayo de líneas paralelas.</p>		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
CONSERVACIÓN. Conservar a temperatura no mayor a -20 °C. Evitar congelaciones y descongelaciones repetidas.		
MEDICAMENTO BIOTECNOLÓGICO (SOLUCIÓN INYECTABLE)		
DESCRIPCIÓN. El liofilizado es un polvo homogéneo de color blanco. En presentación líquida, es una solución incolora, transparente, libre de partículas extrañas. El diluyente es agua de calidad inyectable.		
ENSAYOS DE IDENTIDAD Deberán aplicarse cada una de las siguientes pruebas, comparando con una preparación de referencia.		
A. Electroforesis en gel de poliacrilamida-SDS. MGA 0311. Debe mostrar correspondencia a la preparación de referencia conforme al método propuesto y validado por el fabricante.		
B. Western Blot. La región identificada en la prueba corresponde a la preparación de referencia conforme al método propuesto y validado por el fabricante.		
C. Prueba de potencia. Cumple los requisitos.		
ESTERILIDAD. MGA 0381. Cumple los requisitos.		
ENDOTOXINAS BACTERIANAS. MGA 0316. No es mayor a 5 UI de endotoxina por 2 000 unidades de Eritropoyetina.		
POTENCIA. Entre 80.0 y 120.0 % de la potencia indicada en el marbete, con un límite de confianza de 64.0 a 156.0 %, usando cualquiera de los métodos A (en ratones policitémicos) o B (en		

"2022, Año de Ricardo Flores Magón, Precursor de la Revolución Mexicana"

Dice	Debe decir	Justificación*
ratones normocitémicos) descritos en la sección del Biofármaco de esta monografía.		
PROTEÍNA TOTAL. MGA 0611. Entre 80 y 120 % (m/v) del límite especificado por el fabricante.		
INOCUIDAD. MPB 0680. Cumple los requisitos.		
pH. Límite especificado por el fabricante.		
VARIACIÓN DE VOLUMEN. MGA 0981. Cumple los requisitos.		
CONSERVACIÓN. Entre 2 y 8 °C. No congelar.		

*Para una mejor comprensión de su solicitud adjunte bibliografía u otros documentos que sustenten sus comentarios.

CONSULTA