



“2025, Año de la Mujer Indígena”

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 noviembre y hasta el 31 de diciembre de 2025, 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: _____

NUEVA MONOGRAFÍA

Dice	Debe decir	Justificación*
TRASTUZUMAB <i>Esta monografía aplica tanto al biofármaco como al medicamento biotecnológico.</i>		
El Trastuzumab es un anticuerpo monoclonal humanizado, del isotipo IgG1 kappa, producido mediante tecnología de ADN recombinante en una línea celular estable derivada de células de ovario de hámster chino (CHO). El anticuerpo se une con alta afinidad y especificidad al subdominio IV del dominio extracelular del receptor HER2 (ErbB2), una proteína transmembrana de tipo tirosina quinasa que se encuentra sobreexpresada en ciertos tumores malignos, como el carcinoma mamario HER2 positivo. El principio activo se obtiene mediante un proceso de cultivo celular en condiciones asepticas y controladas, seguido de una purificación multietapa que incluye cromatografía de afinidad, intercambio iónico y exclusión por tamaño, garantizando la eliminación de impurezas del proceso y la obtención de un producto		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
conforme en términos de pureza, identidad, potencia y seguridad biológica.		
Cadena pesada de Trastuzumab EVQLVESGGGLVQPGGSLRLSCAASGFNIKDTYIHWV RQAPGKGLEWVARIYPTNGYTRYADSVKGRFTISADT SKNTAYLQMNSLRAEDTAVYYCSRGGDGFYAMDY WGQGTIVTVSSASTKGPSVFLAPSSKSTSGGTAAL GCLVKDGYFPEPVTVSWNSGALTSGVHTFPAVLQSSG LYSLSVVTVPSQLGTQTYICNVNHPKNTVDKKVE PKSCDKTHTCPPCPAPELLGGPSVFLFPPKPKDTLMIS RTPEVTCVVDVSHEDPEVKFNWYVDGVEVHNAKTK PREEQYNSTYRVVSVLTVLHQDWLNGKEYKCKVSNK ALPAPIEKTIKAKGQPREPVYTLPPSREEMTKNQVS LTCLVKGFYPSDIAVEWESNGQPENNYKTPVLDSD GSFFLYSKLTVDKSRWQQGNVFCSVNHEALHNHYT QKSLSLSPGK		
Cadena ligera de Trastuzumab DIQMTQSPSSLSASVGDRVTITCRASQDVNTAVAWYQ QKPGKAPKLLIYSASFYLSGVPSRSGSRSGTDFTLTI SSLQPEDFATYYCQQHYTTPPTFGQQGTKVEIKRTVAA PSVFIFPPSDEQLKSGTASVVCCLNNFYPREAKVQWK VDNALQSGNSQESVTEQDSKDSTYLSSTLTLKADY EKHKVYACEVTHQGLSSPVTKSFNRGEC		
<chem>C6470H10012N1726O2013S42</chem> Peso molecular aproximado: 145 423 Da		
Tiene una potencia medida de no menos de 80 % y no más de 125 % de la potencia establecida.		
SUSTANCIA DE REFERENCIA. Trastuzumab. Cuando exista un estándar de referencia oficial o internacional disponible, este deberá ser utilizado como base para la generación del estándar interno primario, siempre que se valide conforme al proceso y/o en comparación con		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
un estándar externo. En caso de que la sustancia de referencia no se encuentre disponible comercialmente, podrá emplearse una sustancia de referencia de trabajo que esté ampliamente caracterizada y que cumpla con los criterios establecidos en la presente monografía.		
DESCRIPCIÓN. El anticuerpo monoclonal purificado se formula en una solución amortiguadora estabilizante, la cual puede contener histidina (como agente amortiguador), trehalosa (como estabilizante osmótico) y polisorbato 20 (como tensioactivo no iónico), entre otros excipientes. La forma farmacéutica del principio activo puede corresponder a una solución líquida o a un polvo liofilizado, en función de la composición y requisitos de estabilidad establecidos para el producto.		
De forma líquida es transparente, incoloro a amarillo pálido, libre de partículas.		
ENSAYOS DE IDENTIDAD.		
Nota: Para biofármaco aplican las pruebas: A, B y C Para producto terminado aplica la prueba: C		
A. Mapeo peptídico. MGA 0536. El material de prueba debe ser sometido a digestión enzimática con tripsina bajo condiciones reductoras controladas. La mezcla digerida puede analizarse mediante una técnica cromatográfica de alta resolución, como cromatografía líquida acoplada a espectrometría de masas (LC-MS/MS), que es capaz de separar e identificar los péptidos generados. El método analítico empleado debe permitir una cobertura mínima del 90 % de la secuencia primaria del anticuerpo monoclonal. Este ensayo constituye una herramienta esencial para la confirmación estructural, verificación de la identidad y detección de posibles modificaciones posttraduccionales.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.		
Solución de referencia. Digerir y diluir una porción del estándar de referencia de Trastuzumab en un diluyente adecuado.		
Solución de la muestra. Digerir y diluir una cantidad de Trastuzumab en un diluyente adecuado para obtener una concentración nominal de Trastuzumab similar a la de la solución de referencia.		
Solución control. Digerir y diluir una porción de un control adecuado, constituido por un anticuerpo monoclonal de clase IgG1 distinto a Trastuzumab (por ejemplo, <i>Rituximab</i>), utilizando un diluyente apropiado (como solución amortiguadora de digestión con agente reductor y detergente no iónico, si corresponde), a fin de obtener una concentración nominal equivalente a la de la solución de referencia de Trastuzumab. Esta preparación debe someterse a las mismas condiciones de digestión, análisis y procesamiento que la muestra de ensayo, y se utilizará como control negativo o para verificar la especificidad del método analítico.		
Nota. Las soluciones de digestión descritas en la solución de referencia, la solución de muestra y la solución control se realizan al mismo tiempo, utilizando el mismo lote de reactivos y concentraciones.		
Sistema analítico. Utilizar un procedimiento validado por el fabricante.		
Requisitos de desempeño del sistema.		
Especificidad. El perfil de péptidos obtenido a partir de la solución control es diferente del obtenido a partir de la solución de referencia.		
Análisis.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
<p>Muestras. Los perfiles cromatográficos obtenidos a partir de la solución de muestra y de la solución de referencia deben ser comparados de forma directa. La comparación puede realizarse mediante superposición visual de los perfiles y/o análisis mediante software especializado, evaluando la concordancia en cuanto al número, intensidad relativa y tiempos de retención de los picos en el cromatograma. La similitud entre ambos perfiles constituye evidencia de la identidad estructural y de la correcta secuencia primaria del anticuerpo.</p>		
<p>Criterios de aceptación. El perfil cromatográfico obtenido a partir de la solución de referencia y de la solución de muestra debe mostrar, como mínimo, quince (15) picos peptídicos bien definidos, lo que indica una digestión enzimática adecuada. Los tiempos de retención de los picos correspondientes entre la solución de muestra y la solución de referencia no deben diferir en más de ± 0.2 min, garantizando así la reproducibilidad del método y la concordancia en la secuencia peptídica generada.</p>		
<p>B. Enfoque isoelectrónico capilar. MGA 0312.</p>		
<p>Analizar Trastuzumab utilizando un procedimiento de enfoque isoelectroforético por electroforesis capilar que utiliza un intervalo amplio de anfolitos (intervalo de punto isoelectrónico de 3.0 –10.0).</p>		
<p><i>Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.</i></p>		
<p>Solución de referencia. Estándar de referencia de Trastuzumab en un diluyente adecuado.</p>		
<p>Solución de muestra: Disolver una cantidad adecuada del principio activo Trastuzumab en un diluyente apropiado, como la solución amortiguadora de enfoque</p>		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
isoeléctrico o solución de urea con anfolitos, hasta alcanzar una concentración nominal comparable a la de la solución de referencia. Esta preparación debe garantizar una carga proteica adecuada para la visualización de las bandas de isoformas.		
Solución de control: Preparar una solución diluida de una proteína de referencia distinta al principio activo, como albúmina sérica bovina (BSA) o un anticuerpo monoclonal no relacionado (por ejemplo, Rituximab o algún anticuerpo cuyo punto isoeléctrico no esté entre 9.0-9.5), utilizando el mismo diluyente y ajustando la concentración a un valor similar al de la solución de referencia. Esta solución servirá como control negativo y/o para verificar la especificidad del patrón observado.		
Sistema analítico. Utilizar un procedimiento validado por el fabricante.		
Requisitos de desempeño del sistema.		
Especificidad. El punto isoeléctrico del pico principal obtenido a partir de la solución de referencia está entre 9.0 y 9.5. El punto isoeléctrico obtenido a partir de la solución control debe ser diferente del punto isoeléctrico obtenido de la solución de referencia.		
Análisis.		
Muestras. Solución de referencia y solución de la muestra. Comparar el punto isoeléctrico a partir de la solución de muestra y la solución de referencia.		
Criterios de aceptación. El punto isoeléctrico (pl) del pico principal obtenido a partir de la solución de la muestra no difiere por más de 0.2 unidades de pl del pico correspondiente a partir de la solución de referencia. El perfil general de isoformas debe ser comparable, sin aparición de bandas adicionales o desplazadas fuera del patrón esperado.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
El pico principal del Trastuzumab suele tener un <i>pI</i> entre 9.1 y 9.4. Las variantes ácidas (debidas a desaminación, glicosilación con ácido siálico, entre otros) pueden tener <i>pI</i> < 9.0. Las variantes básicas (como formas desamidadas o truncas, entre otros) pueden tener <i>pI</i> > 9.5, pero en niveles bajos.		
C. Bioensayo.		
Solución de referencia. Estándar de referencia de Trastuzumab en un diluyente adecuado.		
Solución de la muestra. Trastuzumab diluido en un diluyente adecuado similar al de la solución de referencia.		
Requisitos de desempeño del sistema y Análisis. Proceder como se indica en el ensayo para la potencia.		
Criterios de aceptación: El anticuerpo induce citotoxicidad dependiente de complemento.		
POTENCIA. DETERMINACIÓN DE LA ACTIVIDAD BIOLÓGICA: INHIBICIÓN DE LA PROLIFERACIÓN DE CÉLULAS POR TRASTUZUMAB.		
Determinar la potencia mediante un ensayo celular basado en una línea celular que sobreexpresa el receptor HER2 (por ejemplo, SK-BR-3, BT-474 o NCI-N87). Comparar una serie de diluciones de la solución de muestra con una serie de diluciones de la solución de referencia, y evaluar la actividad biológica relativa utilizando un modelo dosis-respuesta adecuado (por ejemplo, el modelo log-logístico de 4 parámetros).		
<i>Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.</i>		
Línea celular. Línea de cáncer de mama humano SKBR3 (ATCC, HTB-30) o cualquier otra línea celular adecuada.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Medio de crecimiento de células SKBr3. Disolver 445 mL de medio McCoy's 5A, 50 mL de suero fetal bovino (SFB) inactivado por calor, 5 mL de penicilina y estreptomicina y filtrar a través de un filtro de 0.22 μ m utilizando un sistema de filtración estéril.		
Medio de ensayo. Disolver 490 mL de medio McCoy's 5A, 5 mL de SFB inactivado por calor, 5 mL de penicilina y estreptomicina. Filtrar a través de un filtro de 0.22 μ m utilizando un sistema de filtración estéril.		
Dilución del estándar de referencia y de la muestra de prueba. Diluir la solución de referencia y la solución de la muestra a 2 μ g/mL. A partir de 2 μ g/mL, prepare diluciones para el ensayo por triplicado: 1.0, 0.500, 0.250, 0.188, 0.141, 0.105, 0.079, 0.059, 0.030, 0.015 y 0.007 μ g/mL en la placa de dilución.		
Añada 10,000 células Skbr3 en 150 μ L de medio de ensayo por pozo en una placa de ensayo de 96 pozos. Transferir 50 μ L de las once diluciones preparadas para la solución de referencia y la solución de la muestra por triplicado, de modo que la concentración final en la placa de ensayo de 96 pozos sea de 0.250, 0.125, 0.063, 0.047, 0.035, 0.026, 0.020, 0.015, 0.007, 0.004 y 0.002 μ g/mL. Incubar las placas en una incubadora con 5 % de CO ₂ a 37 \pm 1 °C durante 5 días. Añadir 30 μ L de azul de alamar (Alamar Blue) el quinto día a todos los pozos de la placa de ensayo e incubar durante 8 h \pm 30 min al 5 % de CO ₂ y 37 \pm 1 °C. Tomar lecturas con un lector de placas por fluorescencia a 530 nm de excitación y 590 nm de emisión. Utilice el software PLA (Parallel Line Assay) o cualquier otro software equivalente adecuado para graficar la curva dosis-respuesta y calcular la potencia relativa, por medio de un modelo log-logístico de la solución de la muestra. La		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
potencia relativa de la solución de la muestra debe estar entre el 80 y el 125 % al compararse con la solución de referencia.		
Control negativo: Pozos con células SKBR3 + medio de cultivo + sin Trastuzumab. Este control negativo permite establecer la línea base de proliferación celular. De igual forma, se podrá incluir un control blanco: medio + reactivos (<i>Alamar blue</i>), pero sin células para corregir el fondo del lector de placas.		
Análisis		
Muestras: Solución estándar y solución de muestra. La potencia relativa de la solución de muestra se calcula con respecto a la solución de referencia utilizando un método adecuado con límites de confianza del 95 %. (Estadística para ensayos biológicos de la FEUM, numeral 4.2).		
Criterios de aceptación. Potencia promedio.80 – 125 % de la potencia relativa establecida a partir de un mínimo de 3 determinaciones independientes.		
Nota: Medir tantas soluciones de muestra independientes como sea necesario para la determinación de los límites de confianza del 95.0%.		
PERFIL DE N-GLICANOS. MGA 0241, CLAR.		
Nota: se puede omitir la prueba en el medicamento biotecnológico, sólo si se realizó en el biofármaco.		
<i>Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.</i>		
Solución de referencia. Estándar de referencia de Trastuzumab en un diluyente adecuado.		
Solución de la muestra. Trastuzumab en un diluyente adecuado.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Solución de aptitud del sistema. Preparar una solución utilizando un estándar comercial de N-glicanos que incluya, al menos, los siguientes compuestos: M5, G0, G0F, G1, G1F, G1F', G2, G2F y al menos un glicano sialilado. Disolver en un diluyente adecuado (por ejemplo, acetonitrilo:agua 75:25 v/v) según el método analítico validado.		
Solución control. Utilizar una proteína no glicosilada en un diluyente adecuado.		
Sistema analítico. Utilizar un procedimiento validado por el fabricante.		
Requisitos de desempeño del sistema		
Identificación de glicanos: Se deben detectar y resolver de forma clara todos los picos esperados en la solución de referencia: M5, G0, G0F, G1, G1F, G1F', G2, G2F y al menos un glicano sialilado.		
Análisis		
Muestras. Solución de referencia y solución de la muestra. Calcular el porcentaje de los oligosacáridos M5, G0, G0F, G1, G1F, G1F', G2, G2F y glicanos sialidados en la solución de la muestra.		
Criterios de aceptación		
-La suma de los glicanos con residuos de galactosa terminal debe ser igual o superior al 35 %.		
-El contenido total de estructuras de alta manosa no debe superar el 10 %, y el de glicanos sialilados no debe exceder el 5 %.		
Repetibilidad del área de picos principales: El coeficiente de variación (%RSD) del área de al menos tres picos principales (por ejemplo, G0F, G1F, G2F) entre inyecciones repetidas (n = 3) debe ser $\leq 5.0\%$.		
Factor de asimetría de picos: El factor de asimetría de los picos principales debe estar entre 0.9 y 1.3.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Tiempo de retención (%RSD): La variabilidad del tiempo de retención entre inyecciones repetidas debe ser $\leq 1.0\%$ para todos los glicanos cuantificables.		
CROMATOGRAFÍA DE INTERCAMBIO CATIÓNICO (CEX) MGA 0241, CLAR.		
<i>Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.</i>		
Solución de referencia. Estándar de referencia Trastuzumab, en un diluyente adecuado.		
Solución de muestra. Trastuzumab, preparado en el mismo diluyente, a una concentración nominal similar a la de la solución de referencia.		
Solución de resolución. Trastuzumab sin tratamiento enzimático, preparado en el mismo diluyente.		
Nota: El tratamiento con carboxipeptidasa B elimina residuos de lisina en el extremo C-terminal de las cadenas pesadas, lo que permite diferenciar variantes básicas (K1) y la forma principal (K0).		
Sistema analítico. Utilizar un sistema HPLC validado con columna de intercambio catiónico adecuada para anticuerpos monoclonales, con detección UV a 280 nm.		
Requisitos de desempeño del sistema		
Especificidad		
Perfil del pico: El cromatograma obtenido a partir de la solución de resolución muestra la presencia de una variante de lisina (K1), eluyendo después del pico principal (K0), cuando se compara con la solución tratada.		
Resolución (Rs): No menor de 1.5 entre el pico principal (K0) y el pico de variante de lisina (K1).		
Ánálisis		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Muestras. Inyectar la solución de muestra y la solución de referencia. Calcular el porcentaje de variantes ácidas y básicas en la solución de muestra con base en el área de los picos individuales respecto al área total.		
Criterios de aceptación.		
Variantes ácidas: No más de 25 %.		
Variantes básicas (incluyendo lisina C-terminal): No más de 25 %.		
ELECTROFORESIS CAPILAR-SDS REDUCTORA (CE-SDS) MGA 0312. Electroforesis Capilar		
Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.		
Nota. Evaluar el perfil de integridad de las cadenas polipeptídicas de Trastuzumab mediante separación por electroforesis capilar en condiciones desnaturizantes y reductoras, con detección UV.		
Solución de referencia. Estándar de referencia de Trastuzumab en un diluyente adecuado (por ejemplo, solución amortiguadora con SDS) a una concentración nominal comparable a la solución de muestra. Por ejemplo, la concentración total de proteína debe estar dentro del rango de 0.5 mg/ml a 4.0 mg/ml.		
Solución de muestra. Trastuzumab en el mismo diluyente que para el estándar de referencia, a concentración equivalente.		
Solución de cadena pesada no glicosilada (CPNG) Preparar incubando una porción del estándar de referencia con PNGasa F en condiciones óptimas de temperatura y pH (según el proveedor), de modo que se logre una desglicosilación de al menos el 95 %.		
Solución de resolución. Mezcla de CPNG al 2.0 % con el estándar de referencia, para confirmar la		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
separación de la forma glicosilada y no glicosilada de la cadena pesada.		
Sistema analítico. Utilizar un procedimiento validado por el fabricante, bajo condiciones reductoras. Por ejemplo, puede emplearse un capilar de sílice fundida recubierto, acoplado a un sistema de CE-SDS con detección UV (aproximadamente a 214 o 220 nm).		
Condiciones generales		
Modo. Reductor		
Solución amortiguadora de separación: SDS 1% en fosfato o borato, pH ajustado		
Temperatura del capilar: 25–30 °C		
Voltaje: según validación del sistema (ej. ±15 kV)		
Tiempo de separación: hasta resolución adecuada de bandas		
Procedimiento		
Las muestras y estándares se calientan previamente en buffer reductor (por ejemplo, con DTT o β -mercaptoetanol) para desnaturalizar completamente el anticuerpo, separando cadenas pesada (~50 kDa) y ligera (~25 kDa).		
Requisitos de desempeño del sistema		
Especificidad. El electroferograma obtenido a partir de la solución de referencia debe mostrar al menos dos picos: uno correspondiente a la cadena ligera (LC) y otro correspondiente a la cadena pesada (HC). Puede observarse un tercer pico correspondiente a la cadena pesada no glicosilada (CPNG) en las soluciones desglicosiladas.		
Calcule el porcentaje de cadena pesada no glicosilada en la solución. Calcule el área porcentual corregida de la cadena ligera, la cadena pesada no glicosilada y la cadena pesada. La suma del área del pico debido a la		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
totalidad de las impurezas, excepto el pico principal, no debe superar el 5 %.		
Resolución: No menor de 1.5 entre el pico de CPNG y el pico de cadena pesada glicosilada, en la solución de resolución.		
Nota. Los siguientes criterios se aplican con respecto al pico de CPNG en la solución de referencia.		
Precisión		
Repetibilidad: Desviación estándar relativa (RSD) no mayor de 2.0 %.		
Precisión intermedia: RSD no mayor de 4.0 %.		
Exactitud: Recuperación en el intervalo de 90.0–110.0 %, con una probabilidad mínima de 0.95.		
Linealidad: Coeficiente de correlación (R^2) no menor de 0.99.		
Intervalo (rango): De 1.0 % a 4.0 % de contenido de CPNG.		
Análisis		
Muestras. Solución de muestra y solución de referencia. Cuantificar el porcentaje de cadena pesada no glicosilada (CPNG) en la solución de muestra, comparando con el perfil y área del electroferograma delestándar de referencia.		
Criterios de aceptación. Las impurezas de cadena pesada no glicosilada (CPNG) no deben ser mayores del 2.0 % del total de proteínas.		
ELECTROFORESIS CAPILAR-SDS (BAJO CONDICIONES NO REDUCTORAS). MGA 031. <i>Electroforesis Capilar</i>		
Analizar Trastuzumab mediante un sistema de electroforesis capilar-SDS validado, que proporcione una adecuada resolución de especies proteicas en el rango de 10 a 250 kDa, con detección ultravioleta		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
empleando un procedimiento de normalización conforme a los lineamientos establecidos.		
<i>Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.</i>		
Solución de referencia. Estándar de referencia de Trastuzumab en un diluyente adecuado a una concentración nominal comparable a la solución de muestra. Por ejemplo, la concentración total de proteína debe estar dentro del rango de 0.5 mg/ml a 4.0 mg/ml.		
Solución de muestra. Trastuzumab en el mismo diluyente que el estándar de referencia, a concentración equivalente.		
Solución de cadena pesada no glicosilada (CPNG) Preparar incubando una porción del estándar de referencia con PNGasa F en condiciones óptimas de temperatura y pH (según el proveedor), de modo que se logre una desglicosilación de al menos el 95 %.		
Solución de resolución. Mezcla de CPNG al 2.0 % con el estándar de referencia, para confirmar la separación de la forma glicosilada y no glicosilada de la cadena pesada.		
Sistema analítico. Utilizar un procedimiento validado por el fabricante, bajo condiciones reductoras. Por ejemplo, puede emplearse un capilar de sílice fundida recubierto, acoplado a un sistema de CE-SDS con detección UV (aproximadamente a 214 o 220 nm).		
Requisitos de desempeño del sistema		
Especificidad: El electroferograma obtenido a partir de la solución de referencia muestra, como mínimo, dos picos: uno correspondiente a la cadena ligera y otro a la cadena pesada. Puede observarse un tercer pico correspondiente a la CPNG.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
En condiciones no reductoras, en el electroferograma obtenido con la solución de referencia y la solución de prueba, identifique los picos correspondientes a las impurezas de bajo peso molecular e IgG. Calcule el porcentaje de impurezas en la solución de muestra. Calcule el porcentaje corregido de impurezas de bajo peso molecular e IgG. La suma del área del pico debido a la totalidad de las impurezas, excepto el pico principal, no debe superar el 7 %.		
Resolución: No menor de 1.5 entre los picos de CPNG y de cadena pesada en la solución de resolución.		
Nota: los siguientes criterios son con respecto al pico de la cadena ligera en la solución de referencia.		
Precisión		
Repetibilidad: No más de 2.0 % de desviación estándar relativa (RSD).		
Precisión intermedia: No más de 4.0 % de RSD.		
Exactitud: Probabilidad no menor de 0.95 para un intervalo de recuperación de 90 – 110 %.		
Linealidad: Coeficiente de correlación (R^2) no menor de 0.99.		
Intervalo: De 1.0 a 4.0 % en concentración de impurezas.		
Análisis		
Muestras. Solución de muestra y solución de referencia. Calcular el porcentaje de impurezas, incluyendo la fracción correspondiente a CPNG, en la solución de muestra.		
Criterios de aceptación. Impureza de cadena pesada no glicosilada (CPNG): No más de 2.0 %. Suma de impurezas de bajo peso molecular: No más de 7.0 %.		
CROMATOGRAFÍA POR EXCLUSIÓN DE TAMAÑO (SEC) PARA EL ANÁLISIS DE AGREGADOS MGA 0241, CLAR		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Se podrán utilizar métodos alternativos y/o variantes a la presente metodología siempre y cuando estén previamente validados por el fabricante y cumplan con los límites establecidos.		
Preparación de soluciones		
Solución de referencia (Estándar de referencia): Trastuzumab de referencia preparado en un diluyente adecuado (por ejemplo, solución amortiguadora salina de fosfato PBS).		
Solución de muestra: Trastuzumab a analizar, diluido en el mismo diluyente, con una concentración nominal equivalente al estándar de referencia.		
Solución de resolución: Diluir el estándar de referencia a una concentración de 1.0 mg/mL en agua e incubar bajo luz UV a 254 nm durante 2 horas para inducir la formación de agregados (alto peso molecular).		
Sistema analítico		
Utilizar un sistema cromatográfico validado, equipado con una columna de exclusión de tamaño, detector UV a 280 nm. Fase móvil: típicamente PBS o solución amortiguadora salina de fosfato, pH 7.0. Flujo: ~0.5–1.0 mL/min. Temperatura: 25–30 °C. Inyección: ~20–50 µL		
También puede emplearse una columna SEC (150 x 4.6 mm, 1.8 µm, 150 Å, 1–450 kDa), manteniéndola a 20 °C, en un sistema HPLC con detector de arreglo de diodos.		
Requisitos de desempeño del sistema		
Especificidad. El cromatograma de la solución de resolución debe mostrar al menos un pico de alto peso molecular (APM) que eluye antes del pico principal.		
Resolución mínima. ≥1.5 entre el pico APM más cercano y el pico principal.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
Precisión		
Repetibilidad. Desviación estándar relativa (RSD) menor o igual a 4.0 % en múltiples inyecciones.		
Precisión intermedia: RSD menor o igual a 4.0 % en condiciones variables (día, analista, equipo).		
Exactitud. Recuperación de la cantidad teórica en el intervalo de 90.0–110.0 % con una probabilidad mínima de 0.95.		
Linealidad. Coeficiente de correlación (R^2) ≥ 0.99 en un intervalo de concentración, por ej. de 1.0 a 4.0 mg/mL.		
Procedimiento de análisis		
Inyectar la solución de muestra y la solución de referencia. Registrar el cromatograma y calcular el porcentaje de impurezas de alto peso molecular (APM) en la muestra, integrando el área bajo la curva (AUC) correspondiente.		
Criterios de aceptación		
Impurezas individuales (APM): Menores o iguales a 1.0 %		
Impurezas totales (todos los agregados): Menores a 2.0 %		
IMPUREZAS RELACIONADAS CON EL PROCESO		
Nota: Pruebas que aplican al biofármaco		
PROTEÍNA A. No más de 10 ppm.		
PROTEÍNAS DE CÉLULAS HOSPEDERA. No más de 100 ppm.		
ADN DE CÉLULAS HOSPEDERAS. No más de 10 ng por dosis.		
LÍMITES MICROBIANOS. MGA 0571. La cuenta total de microorganismos aerobios no es mayor de 1 UFC/mL.		
ENDOTOXINAS BACTERIANAS. MGA 0316. No más de 0.1 UI de endotoxina por miligramo de Trastuzumab.		
Nota: Pruebas que aplican al producto terminado.		



“2025, Año de la Mujer Indígena”

Dice	Debe decir	Justificación*
ESTERILIDAD. MGA 0316. No más de 0.1 UI de endotoxina por miligramo de Trastuzumab.		
CONSERVACIÓN. Almacenar entre 2 y 8 ° C en un envase hermético y protegido de la luz directa.		

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

CONSULTA