

UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL CUSCO

FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD

ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA



**VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA EN EQUIPOS DE
FABRICACIÓN DE LÍQUIDOS ORALES EN UNA PLANTA
FARMACÉUTICA PRIVADA - LIMA**

**TESIS PARA OPTAR AL TÍTULO PROFESIONAL DE QUÍMICO
FARMACÉUTICO**

PRESENTADO POR:

Bach. LIBIA TERESA UGARTE PONCE DE LEÓN

Bach. JUAN ALCIDES ORCCOSUPA CCORIMANYA

ASESORA:

MCs. CARLA DEL CARPIO JIMÉNEZ

CO-ASESOR:

Q.F. JOSÉ LUIS QUINTE SARMIENTO

CUSCO – PERÚ

2020

DEDICATORIA

A Dios, por darme la vida, por darme estos momentos de felicidad de poder lograr mis anhelos y metas, por acompañarme siempre y guiar mis pasos, por darme la oportunidad de superar obstáculos y aprender de los errores.

A mi hermanito BATICITO que está descansando en el cielo y desde allí me acompaña, cuida y de seguro está muy feliz por mí.

A mis padres Victoria Ponce de León Ramos y Jorge Ugarte Cornejo, que estuvieron siempre a mi lado y nunca perdieron la fe en mí, que me apoyaron incondicionalmente en todo momento de mi vida y gracias a su esfuerzo pude cumplir esta meta.

A mis menores hermanas Aldana y Angy por ser la fuerza de mi perseverancia y ser el motivo de mi alegría, por su cariño y confianza.

A mis abuelitos Luciano Ponce de León, Teresa Ramos y Livia Cornejo por su amor incondicional que siempre estuvieron pendientes de mí, con sus sabios consejos para no dejar de lado mis objetivos profesionales.

AGRADECIMIENTO

A Dios por permitirme llegar hasta esta etapa de mi vida, por no abandonarme en las dificultades y obstáculos que se presentaron y por ser la luz de mi camino.

A la universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco por acogerme en sus aulas y ser el centro de mis estudios superiores.

A la Escuela profesional Farmacia y Bioquímica por ser el gran formador de mis conocimientos, a los docentes por incentivar a seguir adelante a pesar de los tropiezos.

A nuestra asesora Dra Carla del Carpio Jiménez, por su enseñanza, su apoyo incondicional, por su confianza y por estar pendientes de nosotros para llevar en pie este trabajo.

A mis compañeros y amigos por su apoyo constante y formar parte de mis experiencias durante mi vida universitaria.

Libia Teresa Ugarte Ponce de León

Agradecer plenamente a dios, por guiarme por el sendero correcto de la vida y permitirme haber llegado al final para obtener este sueño anhelado.

A mis padres, por el apoyo incondicional que me brindaron, a mis hermanos y a todos mis familiares que me alentaron durante todo este recorrido.

A mi compañera de tesis, por su comprensión, cariño, paciencia, por darme el estímulo extra para seguir adelante y por compartir momentos increíbles durante todo este proceso.

A mi asesora de tesis, Dra. Carla del Carpio Jiménez por su confianza, apoyo y dedicación mi agradecimiento infinito. A mi co-asesor Q.F. José Luis Quinte Sarmiento, por sus enseñanzas ejemplares, sus consejos y apoyo incondicional.

A mi alma mater, Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco y los docentes de la escuela profesional de Farmacia y Bioquímica por brindarme toda enseñanza en valores y disciplina de calidad humana; mis más sinceros y eterno agradecimiento.

Juan A. Orccosupa

ÍNDICE

CAPITULO I	17
1. GENERALIDADES	17
1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	17
1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	18
1.3. OBJETIVOS	18
1.3.1. Objetivo general.....	18
1.3.2. Objetivos específicos.....	19
1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO	20
1.4.1 Justificación teórica.....	20
1.4.2 Justificación metódica	20
1.4.3 Justificación práctica	20
1.4.4 Justificación legal.....	21
1.5. HIPÓTESIS DESCRIPTIVA	21
CAPÍTULO II	22
2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL	22
2.1. ANTECEDENTES	22
2.1.1. Antecedentes Internacionales.....	22
2.1.2. Antecedentes Nacionales	24
2.2. BASES TEÓRICAS - CIENTÍFICAS.....	27
2.2.1. Contaminación cruzada	27
2.3. LIMPIEZA	28
2.3.1. Métodos de limpieza	28
2.3.2. Procesos de limpieza	33
2.3.3. Mecanismos de limpieza.....	35
2.3.4. Niveles de métodos de limpieza.....	36
2.3.5. Tipos de equipos según el uso.....	37
2.4. AGENTES DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN	38
2.4.1. Agua	38
2.4.2. Disolventes	38
2.4.3. Detergentes	38
2.4.4. Factores para la elección del detergente	40
2.4.5. Desinfectante o sanitizante	42
2.4.6. Niveles de desinfección	44
2.4.7. Factores que afectan la efectividad del proceso de desinfección	45

2.5.	SALAS BLANCAS	45
2.5.1.	Clasificación de las salas blancas	46
2.6.	FUENTES DE CONTAMINACION DE SALAS BLANCAS.....	48
2.7.	VALIDACIÓN	48
2.6.1.	Validación concurrente.....	49
2.6.2.	Validación prospectiva	49
2.6.3.	Validación retrospectiva	49
2.8.	REVALIDACIÓN	50
2.9.	VALIDACIÓN DE PROCESOS DE MANUFACTURA.....	50
2.10.	VALIDACIÓN DE LIMPIEZA.....	50
2.11.	VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS	51
2.10.1.	Características del desempeño analítico.....	52
2.12.	FACTOR DE RECUPERACIÓN	55
2.11.1.	Categorías del Factor de Recuperación	56
2.13.	DOCUMETOS DE VALIDACIÓN.....	56
2.12.1.	Protocolo de validación.....	56
2.12.2.	Informe de validación	57
2.14.	ETAPAS DEL PROCESO DE VALIDACIÓN.....	57
2.13.1.	Plan maestro de validación	57
2.13.2.	Calificación de equipos	57
2.13.3.	Cálculo de los criterios y determinación de los límites de aceptación.....	58
2.15.	MUESTREO PARA LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA	65
2.14.1.	Método del hisopo.....	66
2.14.2.	Método del agua de enjuague o de aclaramiento.....	67
2.14.3.	Método del placebo.....	68
2.16.	ANÁLISIS FISICOQUÍMICOS.....	68
2.15.1.	Cromatografía líquida de alta resolución	68
2.17.	ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	69
2.17.1.	Crecimiento microbiano.....	69
2.18.	SISTEMA DE GESTIÓN DE RIESGOS EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA.....	71
2.18.1.	Análisis de riesgos en la industria farmacéutica	71
2.18.2.	Herramientas de calidad para el análisis de riesgo	71
CAPÍTULO III.....		75
3. METODOLOGÍA		75
3.1.	MATERIALES, INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y REACTIVOS	75

3.1.1. Materiales de muestreo.....	75
3.1.2. Muestras de análisis	75
3.1.3. Materiales del sistema cromatográfico	75
3.1.4. Instrumentos y equipos de análisis	76
3.1.5. Reactivos	76
3.2. METODOLOGÍA.....	76
3.2.1. Diseño metodológico	76
3.2.2. Diseño de la investigación	76
3.2.3. Variables.....	77
3.2.4. Muestra.....	81
3.3. PROCEDIMIENTO.....	81
Toma de muestra o muestreo	88
CAPITULO IV	96
4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	96
4.1. EVALUACIÓN DE LOS INSUMOS FARMACÉUTICOS ACTIVOS (IFA).....	96
4.2. EVALUACIÓN DE LOS EQUIPOS Y SELECCIÓN DEL PEOR CASO	102
4.3. SELECCIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO	107
4.4. CÁLCULO DE SUPERFICIE TOTAL DEL EQUIPO.....	110
4.5. CÁLCULO DEL LÍMITE DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA.	111
4.6. SELECCIÓN DEL LÍMITE DE ACEPTACIÓN.....	113
4.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	114
4.8. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	132
4.9. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE TRES LOTES CONTINUOS.....	133
4.10. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO.....	136
5. DISCUSIÓN.....	137
6. CONCLUSIONES.....	141
7. SUGERENCIAS (SE PUSO NUMERO A CADA SUGERENCIA).....	143
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	144
ANEXOS	

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1: Diagrama del sistema CIP (*Cleaning In Place*).

Figura N°2: CIP simple y de recirculación.

Figura N°3: Características del lavado COP (*Cleaning Out Place*)

Figura N°4: Factores que intervienen en la limpieza.

Figura N°5: Círculo de Sinner.

Figura N°6: Composición de los detergentes.

Figura N°7: Representación gráfica de la clasificación detergente en la escala de pH.

Figura N°8: Movimientos a realizar con el hisopo para toma de muestra.

Figura N°9: Flujograma del proceso de validación de limpieza.

Figura N°10: Flujograma de obtención de muestra de API (*Active Pharmaceutical Ingredient*).

Figura N°11: Análisis fisicoquímico del agua purificada obtenida por aclaramiento.

Figura N°12: Flujo del proceso de validación del método analítico para determinar trazas de contaminante activo.

Figura N°13: Flujo de análisis microbiológico de los puntos de muestreo.

Figura N°14: Imagen del tanque 1 de fabricación de 400L.

Figura N°15: Distribución de los puntos de muestreo en el equipo más crítico.

Figura N°16: Ejemplo de cálculo de superficie del tanque 1 de fabricación de 400L.

Figura N° 17: Cromatograma del estándar de prednisolona sodio fosfato.

Figura N° 18: Prednisolona sodio fosfato sometido a calor seco.

Figura N° 19: Prednisolona sodio fosfato sometido a luz.

Figura N° 20: Fase móvil sometido a calor húmedo.

Figura N°21: Fase móvil sometido a hidrolisis ácida.

Figura N° 22: Regresión lineal de prednisolona sodio fosfato.

Figura N° 23: Cromatograma de precisión intermedia - Analista 1.

Figura N° 24: Cromatograma de precisión intermedia - Analista 2.

Figura N° 25: Cromatograma de señal de ruido del blanco.

LISTA DE TABLAS

Tabla N°1: Diferencias entre etapas de limpieza manual y CIP (*Cleaning In Place*)

Tabla N°2: Niveles de métodos de limpieza.

Tabla N°3: Clases de suciedad y sus detergentes respectivos.

Tabla N°4: Clasificación ISO, en función al tamaño y cantidad de partículas contenidas en el aire para salas limpias y zonas anexas.

Tabla N°5: Clasificación GMP de salas blancas según el grado de limpieza.

Tabla N°6: Datos requeridos para procesos de validación.

Tabla N°7: Factor de seguridad según la vía de administración.

Tabla N°8: Clasificación microbiológica para salas limpias.

Tabla N°9: Valoración de la solubilidad, según USP 40.

Tabla N°10: Clasificación de la toxicidad.

Tabla N°11: Dosis toxica probable en humanos.

Tabla N°12: Valoración según dosis terapéutica mínima.

Tabla N°13: Asignación de parámetros y factor, según el riesgo.

Tabla N°14: Condiciones cromatográficas.

Tabla N°15: Técnica analítica para determinar sustancias oxidables.

Tabla N°16: Lista de equipos versus IFAs procesados en la sección líquidos orales.

Tabla N°17: Valoración de los IFAs procesados en la planta en función a la solubilidad, toxicidad y dosis terapéutica.

Tabla N°18: Clasificación de los IFAs procesados en la planta farmacéutica según el grupo farmacológico.

Tabla N°19: Resumen de la elección del IFA como peor caso.

Tabla N° 20: Características de los equipos evaluados la planta farmacéutica.

Tabla N°21: Cálculo del factor RRF de los equipos evaluados la planta farmacéutica.

Tabla N°22: Características de los equipos evaluados en la sección líquidos orales objetos de estudio según la criticidad.

Tabla N°23: RRF de equipos utilizados en la sección líquidos orales objetos de estudio.

Tabla N°24: Cálculo de NPR para el equipo E005 seleccionado como el peor caso.

Tabla N° 25: Puntos de muestreo seleccionados

Tabla N°26: selección del límite de aceptación.

Tabla N°27: Estándar de Prednisolona sodio fosfato sometido a condiciones de estrés.

Tabla N°28: Fase móvil sometido a condiciones de estrés.

Tabla N°29: Linealidad del método.

Tabla N°30: Concentración versus área.

Tabla N°31: Parámetros de linealidad.

Tabla N°32: Resultados de precisión de sistema.

Tabla N°33: Resultados de precisión intermedia analista1 y analista 2.

Tabla N° 34: Resultados obtenidos en exactitud.

Tabla N°35: Cálculo de los límites de detección y cuantificación.

Tabla N°36: Resultados de tres lotes analizados

Tabla N°37: Resultados de conductividad de tres lotes analizados.

Tabla N°38: Resultados de pH de tres analizados

Tabla N°39: Resultados de análisis de sustancias oxidables de tres lotes consecutivos.

Tabla N°40: Resultados de crecimiento de bacterias.

Tabla N°41: Resultados de crecimiento de levaduras y hongos.

LISTA DE GRAFICAS

Grafico N°1: IFAs procesadas en la planta farmacéutica en el periodo comprendido del año 2016 – 2018.

Gráfico N° 2: Puntuación de los IFAs en base a la solubilidad, dosis terapéutica y toxicidad.

Grafico N°3: Representación gráfica del cálculo de factor RRF para equipos con mayor riesgo en la sección líquidos oral.

RESUMEN

El presente trabajo se realizó con el objetivo de validar los procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica privada en la ciudad de Lima.

Se realizó la revisión documentaria de los últimos 3 años (2016, 2017 y 2018), fijándose el principio activo denominado como el peor caso de los activos a Prednisolona basándose en la solubilidad, toxicidad y dosis terapéutica, se elaboró un protocolo de validación de limpieza. Así también, se determinó los límites de aceptación para el activo seleccionado como peor caso. El equipo, tanque de fabricación de 400L fue seleccionado como el peor caso seleccionado mediante el método de clasificación y filtrado de riesgos (RRF), seguidamente se identificó siete puntos muestreo mediante la técnica de Modo de fallo y Análisis de efectos (FMEA) y se tomaron muestras por el método del hisopo para el análisis de trazas de Prednisolona y análisis microbiológico. Además, se obtuvo muestras del agua de aclaramiento para realizar los análisis cualitativos de detergente. La validación de limpieza se hizo a través del método analítico por cromatografía líquida de alta resolución HPLC de tres lotes continuos, que también se validó para cuantificar trazas de contaminante presentes en las superficies del equipo. En el análisis cualitativo del agua de aclaramiento se midió pH, conductividad y presencia de sustancias oxidables, Asimismo, se realizó el análisis microbiológico de los siete puntos de muestreo en medios de cultivo específicos como agar Tripticasa soya (TSA) para mesófilos viables y agar Sabouraud (ASAB) para hongos y levaduras.

El producto Prednisolona solución oral fue el p.a. que se procesó con mayor frecuencia según revisión documentaria, el límite de aceptación establecido para este IFA fue de 10ppm. La cuantificación de trazas de prednisolona sodio fosfato fue menor a 10 µg/mL, conductividad fue menor a 1.3µS/cm, pH entre 5 a 7 y el análisis microbiológico cumple con el criterio establecido en el protocolo de validación (máximo 20ufc/25cm² para bacterias y ausencia de hongos y levaduras); resultados que indican que el equipo se encuentra totalmente libre de contaminantes.

En conclusión, este estudio de validación ha logrado demostrar que los procesos de limpieza en los equipos de fabricación de líquidos orales en la planta

farmacéutica privada en la ciudad de Lima, es efectiva y adecuada para eliminar restos de activo, detergentes y compuestos orgánicos, garantizando que los equipos no representan riesgo algún de contaminación cruzada que altere la integridad del producto farmacéutico.

Palabras clave: Prednisolona, trazas, Validación de limpieza.

SUMMARY

This work was carried out with the objective of validating the cleaning processes in oral liquid manufacturing equipment in a private pharmaceutical plant in the city of Lima.

The documentary review of the last 3 years (2016, 2017 and 2018) was carried out, setting the active principle called as the worst case of the active ingredients to Prednisolone based on solubility, toxicity and therapeutic dose, a cleaning validation protocol was developed. Likewise, the acceptance limits for the asset selected as the worst case were determined. The equipment, a 400L manufacturing tank, was selected as the worst case selected using the risk classification and filtering method (RRF), then seven sampling points were identified using the Failure Mode and Effects Analysis (FMEA) technique and They took samples by the swab method for the analysis of traces of Prednisolone and microbiological analysis. In addition, samples of the rinse water were obtained to perform the qualitative detergent analyzes. The cleaning validation was done through the analytical method by high performance liquid chromatography HPLC of three continuous batches, which was also validated to quantify traces of contaminant present on the surfaces of the equipment. In the qualitative analysis of the clarification water, pH, conductivity and the presence of oxidizable substances were measured, Also, the microbiological analysis of the seven sampling points was carried out in specific culture media such as Trypticase soy agar (TSA) for viable mesophiles and Sabouraud agar. (ASAB) for fungi and Yeasts.

The Prednisolone oral solution product was p.a. which was processed more frequently according to documentary review, the acceptance limit established for this IFA was 10ppm. The quantification of traces of prednisolone sodium phosphate was less than 10 $\mu\text{g} / \text{mL}$, conductivity was less than 1.3 $\mu\text{S} / \text{cm}$, pH between 5 to 7 and the microbiological analysis meets the criteria established in the validation protocol (maximum 20ufc / 25cm² for bacteria and absence of fungi and yeasts); results that indicate that the equipment is totally free of contaminants.

In conclusion, this validation study has succeeded in demonstrating that the cleaning processes in the oral liquid manufacturing equipment in the private pharmaceutical plant in the city of Lima, is effective and adequate to remove active residues, detergents and organic compounds, guaranteeing that the equipment does not represent any risk of cross contamination that alters the integrity of the pharmaceutical product.

Keywords: Prednisolone, traces, Cleaning validation.

INTRODUCCIÓN

La industria farmacéutica es un sector encargado de producir y desarrollar medicamentos para la prevención y tratamiento de enfermedades y está sujeto a un sistema de aseguramiento de la calidad, cuya función es asegurar que los productos farmacéuticos cumplan con las características esperadas: identidad, pureza, potencia, seguridad y eficacia, logrando satisfacer las necesidades del consumidor, en base a las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) que, son un conjunto de normas que aseguran que, los productos farmacéuticos sean manufacturados y controlados de acuerdo a los estándares de calidad y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización, y establece que todas las etapas de fabricación de medicamentos deben estar validadas.(1)

La validación consiste en establecer una evidencia documentada de que los procesos y procedimientos tiene un alto grado de garantía de cumplir las especificaciones predeterminadas que permiten la producción de medicamentos. (2)

Debido a antecedentes de contaminación cruzada que se han dado durante la elaboración de productos farmacéuticos, la FDA (Food and Drug Administration) aconseja que las empresas farmacéuticas tengan procedimientos de operación estándar escritos (POES) que detallen los procesos de limpieza utilizados para varias piezas de equipos de fabricación, así como también espera tener procedimientos que indican cómo se validan los procesos de limpieza. (3)

Una validación es una prueba o demostración de que un proceso hace lo que está diseñado para hacer. La DIGEMID, la define como una evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza aprobado para áreas y equipos usados en la fabricación de medicamentos reduce a un nivel aceptable los residuos (agentes de limpieza y productos de degradación). (4)

Desde la actualización de la “Guía de validación del proceso de limpieza por la FDA en 2018, la validación de limpieza ha recibido la atención creciente por parte de la industria farmacéutica, así como de las autoridades sanitarias, no quedando limitado solo para el sector de industria farmacéutica, sino que también se requiere para la industria alimentaria. Asimismo, la FDA declaró que el objetivo de cualquier proceso de validación es demostrar con datos científicos que el sistema trabaja

como se esperaba y que en condiciones normales produce un resultado que siempre cumple con las especificaciones predeterminadas. (3)

La importancia de la limpieza de equipos y eliminación de residuos en equipos para fabricación de medicamentos farmacéuticos se centra en evitar contaminación cruzada que pueda tener como consecuencia posibles alteraciones farmacológicas generado por trazas de principio activo presentes en el siguiente producto fabricado (como por ejemplo, los corticoides en combinación con AINES inhiben la producción de prostaglandinas complicando la cicatrización de úlceras estomacales) , por ello necesario llevar a cabo la validación de procesos de limpieza que aseguren que estos procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales en la industria farmacéutica son eficaces, aplicando un método analítico por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), para cuantificar trazas de principio activo presentes en el siguiente producto fabricado; para lo cual se hace uso de herramientas de calidad (análisis de riesgo) a fin de determinar los límites de aceptación y establecer el peor caso. Asimismo, se elabora un informe técnico basado en los resultados obtenidos en el estudio.

La contribución de este trabajo a la planta farmacéutica consiste en asegurar que los procesos de limpieza de los equipos utilizados para la fabricación de productos farmacéuticos cumplan con los límites de aceptación establecidos en la validación de procesos de Limpieza, asegura también la integridad, pureza y eficacia de medicamentos para su uso respectivo.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

VALIDACIÓN: Acción de comprobar y documentar que cualquier proceso, procedimiento o método, conduce efectiva y consistentemente a los resultados esperados. (34)

VALIDACIÓN DE LIMPIEZA: Evidencia documentada de que los procesos de limpieza realmente eliminan residuos hasta niveles predeterminados de aceptabilidad. (4)

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN: Documento que describe las actividades que se realizarán en una validación, en el que se incluye el criterio de aceptación para la aprobación de un proceso, las condiciones en que se llevara a cabo, los materiales, equipos y la firma del personal encargado de validar el proceso. (3)

PROCEDIMIENTO OPERATIVO ESTANDAR (POE): Documento autorizado que contiene instrucciones para ejecutar operaciones respecto a un producto o procesos. (1)

MÉTODO ANALÍTICO: Es una aplicación específica de una técnica para resolver un problema analítico. (45)

TÉCNICA ANALÍTICA: Proceso científico que ha demostrado ser útil para proporcionar información acerca de la composición de las sustancias. (45)

PEOR CASO: Selección de las condiciones que abarca límites superiores e inferiores de un proceso que tienen mayor probabilidad de fallar. (46)

LIMPIEZA: Acción de reducir los niveles de partículas no viables de una superficie a niveles establecidos mediante métodos físicos y químicos. (1)

SANITIZACIÓN: Eliminación o reducción de los niveles de partículas viables mediante agentes físicos o químicos. (23)

LÍMITE DE DETECCIÓN: Es la cantidad mínima de analito detectable en una muestra, comprobando que la cantidad de analito se encuentra por encima o por debajo de un determinado nivel. (34)

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN: Mínima cantidad de analito en la muestra que se puede detectar, aunque no necesariamente cuantificar mediante un método analítico. (29)

CROMATOGRAFÍA: Es una técnica de separación de componentes de una muestra, que se constituye de una fase móvil y una fase estacionaria que se mueven una respecto de la otra. (34)

CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN: Es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida. Es la técnica más utilizada debido a su sensibilidad y su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas.

AGENTE QUELANTE: Sustancias que enlazan algunos de sus iones con iones metálicos de metales pesados para formar sustancias complejas denominadas quelatos; los más comunes son EDTA, BAL (2,3-dimercapto-1-propanol), D-penicilamina, Desferrioxamina B. (47)

AGENTE TENSOACTIVO: Sustancias que disminuyen la tensión superficial de la interface agua-sustancia grasa o de un líquido, aumentando la velocidad de disolución. La mayor parte de los detergentes domésticos llevan alquilbencenosulfonatos, alquenosulfonatos y alquilpolioxietilensulfonato. (48)

INGREDIENTE FARMACÉUTICO ACTIVO (IFA): Cualquier sustancia o mezcla de sustancias destinada a ser utilizada en la fabricación de un producto farmacéutico como una sustancia terapéuticamente activa. (1)

ABREVIACIONES

API: Active Pharmaceutical Ingredien (Insumo Farmacéutico Activo o IFA).

ADI: Acceptable Daily Intake (Ingesta diaria aceptable).

BPM: Buenas Prácticas de Manufactura.

CIP: Clean in place (limpio en el lugar).

COP: Clean out of place (limpio fuera de lugar).

DIGEMID: Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas.

DAN: Desinfección de Alto Nivel.

DNI: Desinfección de Nivel Intermedio.

DBN: Desinfección de Bajo Nivel.

DSR: Desviación Estándar Relativa.

DL50: Dosis Letal Media.

DDminA: Dosis diaria mínima de A.

DDmaxB: Dosis diaria máxima de B.

FDA: Food and Drug Administration (Administración de Medicamentos y Alimentos).

FMEA: Failure mode and effects Analysis (Análisis de modos de fallo y efectos).

FS: Factor de Seguridad.

HPLC: High Performance Liquid chromatography (cromatografía líquida de alta resolución).

ICH: *International Conference on Harmonization* (Conferencia Internacional sobre armonización).

IFA: Ingrediente Farmacéutico Activo.

LD: Límite de Detección.

LC: Límite de Cuantificación.

LAR: Límite de Aceptación de Residuo.

MINSA: Ministerio de Salud.

MACO: Maximum Allowable Carry Over (Máxima traza permitida).

NOEL: No observable Effect Level (Nivel de efecto no observable).

NPR: Numero Prioritario de Riesgo.

POE: Procedimiento de operación Estándar.

RRF: Risk Ranking and Filtering (Clasificación de riesgo y filtrado).

TLprodB: Tamaño de lote del próximo producto B.

UPLC: Ultra Performance Liquid Chromatography (*Cromatografía* líquida de ultra alta resolución).

USP: United States *Pharmacopeia* (*Farmacopea de los Estados Unidos*).

ufc: Unidades Formadoras de Colonia.

VRL: Visual Residue Limit (Límite visual de residuo).

CAPITULO I

1. GENERALIDADES

1.1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

En la industria farmacéutica, la producción de medicamentos comprende una serie de procesos que se deben cumplir para generar productos farmacéuticos de calidad. (1)

Para ello se requiere que estos procesos sean validados, es decir requiere la comprobación de que los equipos, materiales y procedimientos funcionen y se cumplan como realmente se pretende cumplir, documentándose a través de protocolos de validación y métodos analíticos los que establecen parámetros y criterios de aceptación. (1)

Así mismo los procedimientos de limpieza deben comprobarse documentalmente que verdaderamente se realizan y cumplen con los parámetros que propone la FDA, OMS y las BPM, asegurando así la calidad del producto y que no existen riesgos de contaminación cruzada de ingredientes activos, excipientes, detergentes o desinfectantes cuando se utiliza un mismo equipo para distintos productos. (3) Así como también determinar que el consumidor final no este vulnerable a riesgos respecto a su salud.

La disposición del equipamiento debe estar enfocada a minimizar el riesgo de errores y permitir la limpieza efectiva y mantenimiento adecuado para evitar la contaminación cruzada, acumulación de polvo y otros factores que intervengan en el procedimiento de limpieza de equipos. (3)

La importancia de la validación de métodos radica en que este procedimiento permite la obtención de pruebas convenientemente documentadas y demostrativas de que un método analítico es lo suficientemente fiable como para producir el resultado previsto, y respecto a la validación de limpieza su importancia se basa en el hecho de demostrar que los procesos de limpieza cumplen con los parámetros sugeridos por la FDA y BPM, y que realmente son los adecuados para evitar la contaminación cruzada y de esa forma asegurar la calidad e integridad de los productos farmacéuticos. (1)

Rutinariamente se debe asegurar, en los procedimientos de limpieza, que ningún residuo orgánico e inorgánico, (principio activo, excipiente) quede impregnado en los equipos, así como también los detergentes que se usan para remover las sustancias deben estar ausentes, logrando que el agua de enjuague que se hace pasar por el equipo tenga las mismas características fisicoquímicas que el agua purificada antes de enjuagar. Por ello, nos enfocamos en investigar y así mejorar la limpieza de equipos de fabricación a través de una validación de estos procedimientos, iniciando desde conceptos de limpieza, residuos removibles, detergentes y etapas de validación que nos permita validar los procedimientos de limpieza, aplicando métodos analíticos para asegurar la fabricación de productos farmacéuticos de calidad.

Actualmente la validación de procesos en la planta farmacéutica en donde se realiza este trabajo, viene siendo implementado como parte de la “mejora continua” y por exigencia del nuevo manual de buenas prácticas de manufactura (DS 021-2018SA), la presencia de desviaciones en la sección líquidos orales específicamente en la sala de fabricación, por presencia de restos visibles en los equipos de fabricación después de su limpieza, conllevó a desarrollar esta investigación para obtener evidencia documentada que provea un alto grado de seguridad en los procedimientos de limpieza utilizados en la planta farmacéutica. Para lo cual se formula el siguiente problema:

1.2. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿Cumplirán con los parámetros de validación sugeridos por la FDA y BPM los procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales en la planta farmacéutica privada de Lima?

1.3. OBJETIVOS

1.3.1. Objetivo general

Validar los procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica privada en la ciudad de Lima, cumpliendo criterios sugeridos por la FDA y BPM.

1.3.2. Objetivos específicos

1. Elaborar el protocolo de validación de procedimientos de limpieza de equipos utilizados en el área de líquidos orales en una planta farmacéutica privada-Lima.
2. Establecer el peor caso, para los principios activos utilizados en el área de fabricación de líquidos orales y fijar los límites de aceptación.
3. Establecer el peor caso para los equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales en la industria farmacéutica, por el método del Risk Ranking and Filtering (RRF).
4. Establecer los puntos críticos del equipo seleccionado como el peor caso, para la toma de muestra mediante el Modo de Fallo y Análisis de Efectos o FMEA (*Failure Mode and Effects Analysis*).
5. Proponer y validar el método analítico de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) para cuantificar trazas de principio activo seleccionado como peor caso.
6. Cuantificar trazas de principio activo seleccionado como peor caso por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en tres lotes continuos.
7. Realizar análisis cualitativo de residuos de detergente mediante medición de pH, conductividad y presencia de sustancias oxidables por prueba de permanganato de potasio.
8. Efectuar pruebas de ausencia de contaminante microbiológico luego de aplicar el método de limpieza al equipo seleccionado como el peor caso.
9. Evaluar los resultados fisicoquímicos, microbiológicos y elaborar un informe técnico de validación de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica.

1.4. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO

1.4.1 Justificación teórica

La contaminación cruzada es la contaminación de materia prima, producto intermedio, o producto terminado, con otra materia prima o producto durante la producción, (1) poniendo en riesgo la integridad del producto, pudiendo alterar la seguridad, identidad, potencia, calidad o pureza del producto farmacéutico, y que consecuentemente podría generar un efecto no deseado en el consumidor o paciente.

Por ello, se requiere validar los procedimientos de limpieza a través de una determinación cuantitativa de trazas, evaluando el peor caso, con el fin de establecer los criterios de aceptación.

1.4.2 Justificación metódica

El método analítico utilizado para detectar residuos (trazas) debe ser específico, altamente sensible y reproducible para lograr detectar y cuantificar niveles muy bajos de contaminantes. El objetivo es también desafiar el método analítico en combinación con los métodos de muestreo utilizados para mostrar que los contaminantes pueden recuperarse de la superficie del equipo y a cualquier nivel. (3).

La cromatografía líquida de alta resolución es un método específico que detecta un único compuesto en presencia de otros componentes y permite su separación para su identificación y cuantificación, es una técnica de separación basada en una fase estacionaria sólida y una fase móvil líquida; siendo la técnica más ampliamente utilizada, debido a su sensibilidad, su fácil adaptación a las determinaciones cuantitativas exactas, su idoneidad para separar especies no volátiles o termolábiles y su gran aplicabilidad en la industria.(5)

1.4.3 Justificación práctica

Mediante la validación de limpieza podemos asegurar que los procesos de fabricación se realizan en condiciones óptimas que abarca el área de trabajo y equipos limpios, libres de partículas que puedan afectar la integridad del fármaco, garantizando su calidad, evitando que la contaminación cruzada se genere en cualquier momento de la rutina

productiva. Asimismo, permite mejorar los procesos de limpieza de los equipos de fabricación (detergentes, enjuagues, concentración de detergente) optimizando el control de la calidad.

1.4.4 Justificación legal

En 1993 la FDA (Food and Drug Administration), publicó la primera guía de inspecciones para validación de procesos de limpieza, que detalla y orienta a las industrias farmacéuticas los puntos necesarios para realizar los procesos de validación.

La FDA (Food and Drug Administration) exige que las empresas farmacéuticas tengan procedimientos escritos (POES) que detalladamente expliquen los procesos de limpieza para los equipos utilizados en la fabricación de los productos farmacéuticos, así como los métodos de eliminación de residuos solubles en agua y los no solubles, también espera que las empresas ya tengan por adelantado protocolos específicos de validación por escrito para los estudios que se realizarán en cada sistema de fabricación o pieza de equipo que debe abordar cuestiones como los procedimientos de muestreo, los métodos analíticos que se utilizarán, e informes de validación con los resultados obtenidos.(3)

En nuestro país el decreto supremo N°021-2018-SA (ley 29459) aprueba el Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de productos farmacéuticos, en el que se indica que cualquier aspecto de operación, cambios significativos en las instalaciones, sistemas, equipos, materiales, procesos que pueden afectar a la calidad del producto ya sea directamente o indirectamente, debe estar calificado y/o validado, lo que debe realizarse permanentemente mediante programas y deben ser renovados como mínimo anualmente. (1)

1.5. HIPÓTESIS DESCRIPTIVA

Los procesos de limpieza de equipos de fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica privada de Lima, cumplen con los parámetros de validación sugeridos por la FDA y BPM.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1. ANTECEDENTES

2.1.1. Antecedentes Internacionales

Rezquellah W. Validación de los procesos de limpieza en la industria farmacéutica, mediante la aplicación del análisis de riesgo, seguridad toxicológica y UHPLC [Tesis doctoral]. España: Universidad de Barcelona; 2015.

El objetivo de este trabajo fue desarrollar y establecer una metodología para validar los procesos de limpieza en una planta piloto aplicando herramientas de análisis de riesgo para elección de equipos a estudiar y toxicidad para determinar el límite permisible.

Para llevar a cabo la validación de limpieza, inicialmente se hizo una evaluación de las características de los equipos de fabricación basándose en información acerca de su infraestructura mediante la técnica del análisis de modos de fallo y efectos y de las características fisicoquímicas de los principios activos (toxicidad), estos criterios tomados permitieron seleccionar una comprimidora rotatoria RIVA y el principio activo fumarato de quetiapina denominados como peor caso los que fueron objeto de estudio. Se propuso un límite de aceptación para la validación de limpieza. Se realizó un muestro de los puntos seleccionados mediante el método del hisopado en los que se determinó por HPLC y UPLC (Cromatografía de alta resolución y cromatografía de ultra resolución respectivamente) cuyos parámetros de validación fueron estabilidad de la solución, identificación del principio activo, especificidad, linealidad, precisión, robustez y exactitud, para tal estudio se utilizó un sistema cromatográfico que consistió de una columna Zorbax SB-AQ 50cm x 4.6 mm x 5um , fase móvil de acetonitrilo: buffer fosfato pH 7,0 (40:60), con un flujo de 1,5 ml/min, a una longitud de onda de 220nm a 35°C. Además de realizarse análisis microbiológico a cada punto tomado. Dando como límite de aceptación 0.4ug/cm² de quetiapina fumarato, concentración que se usó como estándar para validar

el método analítico. Encontrándose las condiciones cromatográficas idóneas para el estudio que permitió la validación del método analítico. El análisis microbiológico para cada punto crítico dio ausencia de microorganismos manteniéndose dentro de los límites establecidos. Se concluyó que, a menor concentración de detergente, con menor tiempo de contacto con el equipo, temperatura y acción mecánica alta optimiza el proceso de limpieza, demostrando que es adecuada y correcta para la eliminación de residuos. Y demostrándose que el método analítico por HPLC validado es selectivo, lineal, preciso, exacto, reproducible y robusto. (6)

Morales M. Validación del procedimiento de limpieza del proceso de manufactura de caramelos de Laboratorios ELMOR SA. [Tesis]. Sartenejas, Caracas: Universidad Simón Bolívar. Escuela de Ingeniería Química; 2010. (7)

Esta investigación se realizó con el objetivo de validar los procedimientos de limpieza de los equipos involucrados en el proceso de manufactura de caramelos de Laboratorios Elmor , el peor caso se determinó en base a la solubilidad y toxicidad de sus activos siendo el cloruro de Cetilpiridinio el activo en estudio, la toma de muestras fue por el método del hisopo, se tomó como mínimo tres puntos de muestreo en distintos equipos utilizados en la producción de medicamentos y el método analítico fue por HPLC cromatografía de alta resolución, teniendo como parámetros especificidad, linealidad del sistema, precisión del sistema, exactitud y robustez del sistema. La fase móvil consistió en 550 mL agua, 480ml de metanol, 120mL de acetato de sodio 1M y 48 mL de ácido acético glacial y ácido heptanosufónico en metanol. Se utilizaron las siguientes condiciones cromatográficas: columna Novapak CN, flujo 1mL/min, presión de 3000 psi, longitud de onda de 254 nm. Respecto a los resultados, se cumplió con los criterios de aceptación para la validación del método, siendo 8mg/mL el límite mayor de contaminante aceptable que se puede encontrar, para el caso del detergente utilizado, que es Cloruro de Benzalconio, la cantidad máxima permisible en el área es de 20,5 ppm concluyendo que los residuos de activo y detergente para todos los puntos muestreados cumplieron con

las especificaciones establecidas. Se tiene suficiente evidencia para asegurar que los resultados de residuos de activo y detergente, cumplirán de manera consistente con los criterios establecidos, garantizando la pureza, seguridad y eficacia de los productos elaborados en esta área. (7)

Gutiérrez A. Validación de limpieza y sanitización de un área de envase de producción de vacunas biológicas [Tesis]. Bogotá D.C: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias; mayo 2013. (8)

En el presente trabajo se realizó la validación de los procesos de limpieza y sanitización del área de envase de vacunas biológicas de la empresa colombiana de productos veterinarios VECOL S.A. para esto se realizaron muestreos del área y de las superficies de envase de productos biológicos durante tres semanas, el volumen de muestreo para el área del flujo laminar con el equipo MAS-100 es de 500 L y para las áreas circundantes al flujo laminar es de 700 L, las superficies fueron muestreadas con la metodología de petrifilm, estos muestreos se realizaron para bacterias mesófilas y hongos-levaduras. Con los datos obtenidos se determinó límites de acción, esperando que los procedimientos de limpieza y sanitización sean adecuados para el envasado e vacunas estérilmente. (8)

2.1.2. Antecedentes Nacionales

Dávila J. Validación del procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de Betametasona 0.05% crema. [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2012. [Fecha de acceso 13 de octubre del 2018]. (9)

Este trabajo se realizó con el propósito de validar el procedimiento de limpieza de los equipos utilizados en la industria farmacéutica para elaborar Betametasona 0,05% crema, iniciándose con una revisión del peor caso, es decir elegir equipo con mayor dificultad para eliminar los residuos durante el proceso de limpieza y el activo menos soluble en el agua de enjuague y con mayor toxicidad. Por la insolubilidad del activo, con una toxicidad (DL-50) de 450mg/kg y por el tamaño de lote que se produce, la Betametasona 0,05% crema representa el peor caso para ser estudiado, con respecto a los equipos utilizados, fueron elegidos el mezclador OLSA y la envasadora de

ungüentos IWKA por su poca accesibilidad a la limpieza. La validación es prospectiva porque se realiza a tres lotes de productos a lo largo de un año. Para la toma de muestras se eligió el método del hisopado identificándose los puntos de muestreo en áreas de 25cm² (5cm x 5cm). Las muestras tomadas se analizaron por determinación química de trazas de principio activo empleando un método analítico cromatográfico HPLC, para el que se tomó Betametasona Dipriopionato como estándar de referencia, fase móvil de pentanosulfonato de sodio, 780 mL de agua, 10mL de trietanolamina, a pH 2,5 +/- 0,1 y 220 mL de metanol. Asimismo, se toman muestras por el método de enjuague para determinar los parámetros de pH y conductividad del agua de enjuague final que se hace pasar por los equipos elegidos. Se realizó análisis microbiológicos por el método de control de superficies. Los resultados dieron conforme en los análisis efectuados a los tres lotes de Betametasona 0,05% crema que se han estudiado. Los resultados fisicoquímicos y microbiológicos obtenidos de las trazas, de agente contaminante, Betametasona, y del enjuague, se encontraron por debajo de los límites de aceptación indicada en los procedimientos de limpieza de equipos, cumple con los criterios de aceptación, por lo tanto, se da por validado. (9)

Espíritu FA. Validación del proceso de limpieza del mezclador en “V” de 450kg, usado en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas. [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013. [Fecha de acceso 13 de octubre del 2018]. (10)

Para validar el procedimiento de limpieza específico del mezclador en V de 450 Kg, inicialmente se hizo una selección del contaminante del peor caso, realizando una lista de los principios activos que se fabrican en este equipo, el que se utiliza en la mayoría de fabricación de productos y lotes, basándose en la metodología de: solubilidad, toxicidad LD50 y dosis terapéutica. A partir de la cual resulta la dexametasona como contaminante activo. La toma de muestra se da después del último enjuague con agua, en 25cm² de la superficie interna del equipo, mediante un hisopado a los

puntos previamente establecidos para análisis fisicoquímicos y microbiológicos. Y, asimismo un análisis de conductividad de la misma agua para analizar la presencia de detergentes. Para la determinación de trazas, se utilizó el método analítico por cromatografía líquida de alta performance.

El sistema cromatográfico consistió en una fase móvil de agua y acetonitrilo (550:450), detector a 254nm, columna Phenomenex 150mmx 4,6 x 5um, temperatura de 30°C y un volumen de inyección de 100uL. Diluyéndose

Estándar dexametasona base y los hisopos con muestra en diluyente agua: metanol (1:1). Respecto a los resultados, el análisis visual fue conforme, la cuantificación de trazas y la conductividad resulto por debajo de límite de aceptación propuesto (1,25ug/hisopo), y los análisis microbiológicos dieron < a 5ufc/25cm² siendo el máximo 25ufc/25cm². Lograndose validar el procedimiento de limpieza. (10)

Castillo S, Rider A. Validación del procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de tabletas de liberación prolongada - Cefaclor 500mg. [Tesis]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2012. [Fecha de acceso 18 de octubre del 2018]. (11)

Este trabajo se realizó con el propósito de validar el procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de tabletas de liberación prolongada cefaclor 500mg, para asegurar que las trazas del agente contaminante no alteren negativamente el siguiente producto a fabricar en el mismo equipo.

Se elabora una tabla que incluya los productos fabricados basándose en el tamaño de lote en unidades, tamaño de lote en gramos, peso de forma farmacéutica, cantidad administrada por día en gramos, dosis terapéutica en gramos y máxima dosis diaria del producto. Al comparar solubilidad, dosis máxima diaria y dosis letal media (DL50) se determinó que el Cefaclor representa el “peor caso” teniendo mayor riesgo significativo de generar contaminación cruzada, principio activo que es poco soluble, con un lote de 80 000 unidades y una toxicidad de 20000mg/Kg. Se tomó muestras en

áreas de 25 cm², mediante el método del hisopado, siendo el alcohol 96° el solvente de las muestras tomadas, que se dieron en 5 equipos cada uno con diferentes puntos de muestreo. Los equipos muestreados fueron un granulador oscilante CAM, mezclador en V, tableteadora Rotativa manesty, Bombo de recubierta y una blistera ULHMANN. También se realiza un análisis de pH y conductividad del agua purificada de enjuague, antes de pasar por el equipo (blanco) y después de pasar por el equipo. Se tomó tres lotes seguidos como objeto de análisis. La determinación cuantitativa de trazas de Cefaclor se dio por sistema cromatográfico de alta resolución, teniendo como fase móvil heptano sulfonato de sodio con 780mL de agua, 10ml de trietanolamina a un pH de 2.5 +/- 0.1 y seguido de 220mL de metanol, y como fase estacionaria una columna octadecilsilano RP18e LICHROSPHER 5um x 250mm. Siendo el estándar de referencia el mismo Cefaclor, siendo el límite no mayor a 10ppm. Sin olvidar que cada punto muestreado conto con análisis microbiológico, siendo su criterio de aceptación máximo de 20 ufc/placa. En cuanto a los resultados, la determinación de trazas dio inferior a 10ppm en cada punto, en los tres lotes, el pH y la conductividad del agua de enjuague son similares a del blanco (agua antes de enjuague) indicando la ausencia de detergentes y el análisis microbiológico salió conforme siendo menor a 20ufc/placa. (11)

2.2. BASES TEÓRICAS - CIENTÍFICAS

2.2.1. Contaminación cruzada

Según las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) es la contaminación de materia prima, producto intermedio, producto terminado con otro insumo o producto durante la manufactura. En cada proceso de fabricación se puede contaminar de alguna manera el producto; durante la dispensación, mezcla, formación de la forma de dosificación, compresión, llenado, recubrimiento, pulido y envasado. (1) La contaminación tienes dos orígenes:

- **Externo:** abarca a los contaminantes físicos, químicos y microbiológicos que proviene del medio externo que puede estar en materia prima, materias de acondicionamiento. (12)
- **Interno:** Incluye contaminantes que se generan dentro de los procesos de la línea productiva. (12)

Es importante tener conocimiento de la solubilidad de los contaminantes para poder eliminarlos con facilidad, de acuerdo a su naturaleza fisicoquímica o microbiológica. Hay tres formas de contaminación cruzada.

A. Contaminación biológica: Se da por Bacterias, hongos, virus, los que pueden transportarse a través de práctica antihigiénica e insalubre, Vestimenta de trabajo inapropiada, uso de los materiales y equipos contaminados, Lesiones o heridas abiertas en los operadores y operadores que sufren de enfermedades contagiosas. (14)

B. Contaminación química: La composición química que queda del anterior producto puede añadir impurezas por la humedad, vapor y otros tipos de compuestos (orgánico, inorgánico). (14)

C. Contaminación física: las Partículas, polvo de la máquina, fibras o trocitos desprendidos que quedaron de un proceso anterior pueden añadirse al nuevo producto provocando su contaminación. (14)

2.3. LIMPIEZA

Es la eliminación física de materias orgánicas y de la contaminación de objetos, en general se practica con agua, a la que se añaden o no detergente. Por lo regular, la limpieza no está destinada a destruir los microorganismos sino a eliminarlos. (13)

2.3.1. Métodos de limpieza

En la actualidad se tiene una tendencia mayor a reducir al mínimo la intervención de la mano de obra durante los procedimientos de limpieza y así superar la falta de reproducibilidad de la limpieza manual. Por lo tanto, la industria farmacéutica no es ajena a esta tendencia y son cada vez más

las industrias en optar la automatización de este sistema de limpieza. En la industria farmacéutica se utilizan tres tipos de limpieza:(14)

- A. Limpieza manual
- B. Limpieza semiautomática.
- C. Limpieza automática.

A. Limpieza manual

Este tipo de limpieza es un método en el que no se requiere un equipamiento técnico adicional y se puede definir como la aplicación de una acción mecánica por parte de un operario el mismo que utilizara cepillos, paños, y productos de limpieza para limpiar las superficies de las máquinas y equipos. Sin embargo, la exposición de los agentes químicos con los operarios es mucho más frecuente con respecto a la limpieza automática. Los resultados obtenidos luego de realizar manualmente dependerán mucho de la aplicación y monitorización de los procedimientos establecidos para este fin asimismo de la aplicación de los parámetros de control como presión, concentración de los agentes de limpieza, temperatura y tiempo. La ventaja que brinda este tipo de limpieza se dirige a las áreas críticas del material que son de difícil acceso con otros tipos de limpieza, por el contrario, la principal desventaja es la reproductibilidad del método (14).

B. Limpieza semiautomática

Este tipo de limpieza nace de la combinación de operaciones manuales y automáticas en donde la intervención humana es mínima pero muy indispensable. La limpieza se realiza para equipos o máquinas que no se pueden desmontar o que lo hacen parcialmente de modo que las partes desmontables se realizan manualmente. (14)

C. Limpieza automática

En este tipo de limpieza no se requiere la intervención humana este está totalmente automatizado de modo que los equipos no se desmontan. Esto se logra por aspersion o movimiento de fluidos o disolventes y la secuencia de las operaciones e realiza bajo condiciones predeterminadas asegurando la reproductibilidad de la limpieza. La

intervención humana se reduce al mínimo, pero es de vital importancia realizar las supervisiones del caso asegurándose el buen desempeño del sistema con el control exhaustivo de registros, check list, entre otros de manera secuencial. Se conocen dos tipos de limpieza automática, limpieza in situ o CIP y limpieza fuera de lugar o COP. (14)

1. Limpieza in situ o CIP: Este sistema se utiliza para la limpieza interna de equipos y maquinas industriales, sobre todo en la industria farmacéutica y alimentaria y pueden ser fijas o centralizadas. (15)

Este sistema se lleva a cabo en el lugar, se trata de un procedimiento automático que utiliza soluciones químicas de limpieza recirculadas por bombas de alta presión. Un sistema CIP posibilita limpiar una porción de la planta mientras que otras áreas continúan operando permitiendo una utilización más alta de la planta de producción. La estación de lavado CIP es muy utilizado en la industria alimentaria y farmacéutica, es un aparato que consiste en varios tanques de agua potable, solución de limpieza (ácido y base) y agua de retorno (*ver figura N°1*), las dimensiones de los tanques o sistema se ajustan de acuerdo a los requisitos de los ciclos de limpieza y desinfección requeridas. Es idóneo para la desinfección de tuberías, tanques, centrifugadoras, etc (15). Normalmente el proceso de lavado en CIP se realiza de la siguiente manera:

- Pre enjuague.
- Limpieza alcalina.
- Enjuague.
- Limpieza acida.
- Desinfección.
- Enjuague.

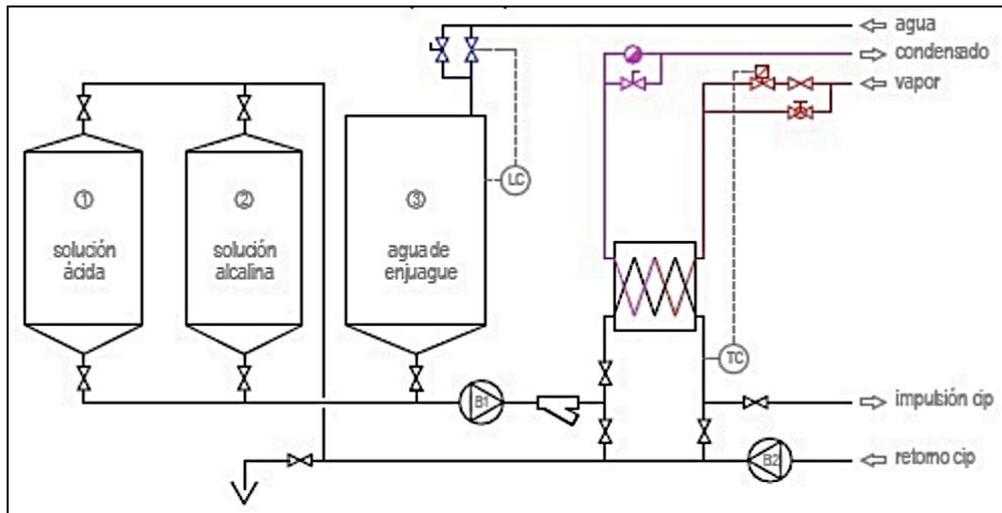


Figura N°1 Diagrama del sistema CIP

http://www.cuben.com.ar/catalogos/01_ARTICULO_TECNICO_CIP_CUBEN (15)

En la industria actual como alimentaria, química, farmacéutica o cosmética un correcto diseño de los procesos de limpieza es fundamental para evitar los problemas de contaminación, para ello se incorporan los sistemas CIP (del inglés Clean In Place) dentro de las líneas de proceso haciendo recircular por el entramado de depósitos y tuberías una solución de productos químicos. Posee un control automático de los cuatro puntos clave para la realización de una buena limpieza como la concentración correcta de detergente, temperatura adecuada de actuación, acción mecánica y tiempo de paso necesario (16)

Según el diagrama o “Circulo de Sinner” Toda limpieza requiere de cuatro parámetros para su correcta ejecución que son el tiempo, temperatura, acción química y acción mecánica. Estos parámetros son variables en el cual si varia alguno, debe estar compensado con uno o varios de los restantes para poder mantener una buena calidad final, por ejemplo, si disminuye el tiempo se requerirá mayor temperatura, si reduce la temperatura, se requerirá mayor acción mecánica. El diseño y desarrollo de un CIP e especialmente adecuado para equipos donde se fabrican líquidos o semisólidos. (19)

Existen dos tipos de CIP:(17)

- **Sistema simple:** en el cual la solución de limpieza se introduce en el sistema, terminando el proceso se descarga, se desecha y por último se enjuaga. (17)
- **Sistema de recirculación:** en este sistema implica la preparación de la solución de limpieza en un tanque externo, esto debido a que la solución recircula hasta que los ciclos de limpieza hayan finalizado. Posteriormente, se realiza el enjuague final. (17) (Figura N° 2).

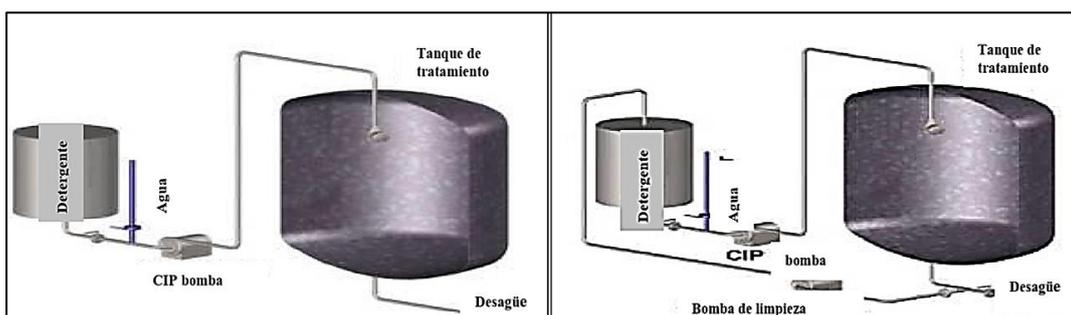


Figura N°2 CIP Simple y de recirculación. (17)

Ventajas: garantiza el control repetitivo de los parámetros, evita la manipulación de forma manual de productos peligrosos, se controla y optimizan el consumo de agua, se dispone la trazabilidad en cada limpieza, se optimiza el consumo de energía, se puede integrar dentro de los procesos de producción automatizados, requieren bajo mantenimiento, etc. (17)

Desventajas: una de las desventajas de este tipo de limpieza es su elevado coste de instalación razón por la cual apenas se ha extendido a otras plantas. (17)

a. **Limpieza fuera de lugar o COP:** Este tipo de limpieza denominada también por inmersión, se realiza fuera del lugar en donde se encuentra instalada las maquinas o equipos, para lo cual se desmontan parte o piezas de las máquinas y llevadas a un área de lavado en el cual se realizará el lavado y desinfección automático o semiautomático de herramientas, partes o piezas dentro de un tanque utilizando diferentes agentes de limpieza a presión, turbulencia y a una temperatura determinada de manera rápida confiable y reproducible. (18)

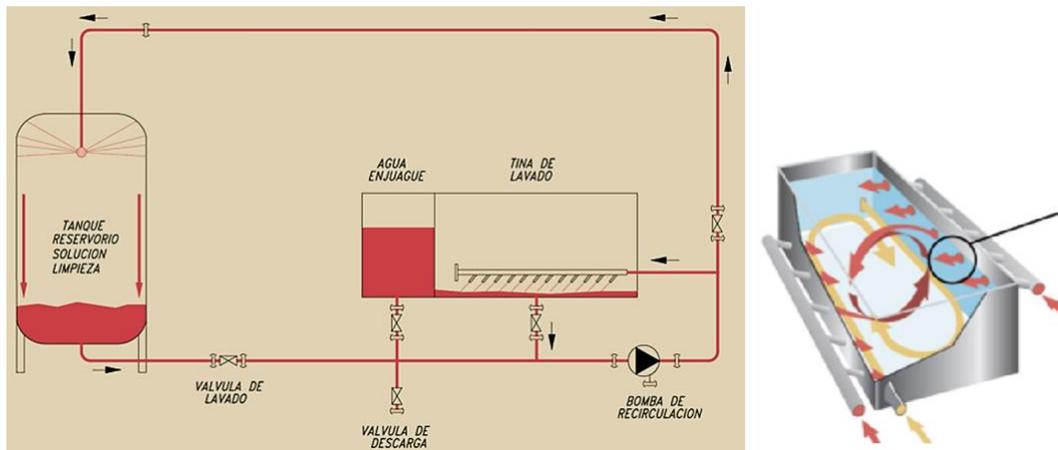


Figura N°3 Características del lavado COP. (18)

Ventajas: Este sistema posibilita el consumo medido de agua, agentes de limpieza, disminuye significativamente las horas de trabajo y reduce la exposición del operador a productos químicos. (18)

2.3.2. Procesos de limpieza

Para que un procedimiento de limpieza sea lo más adecuado, este debe ser consistente reproducible y eficaz con lo cual dicho proceso será validado y demostrado documentalmente. (6)

Los procesos de limpieza llevadas a cabo dentro de una planta son:

A. Proceso pre operacional: son procesos de limpieza que se realizan y anteceden a las operaciones del proceso productivo. (6)

B. Proceso operacional: son procesos y operaciones propias que se realizan durante el proceso productivo. (6)

B. Proceso post-operacional: son los pasos y operaciones que se realizan una vez finalizado el proceso de producción. (6)

En la siguiente tabla se realiza una diferencia entre un proceso de limpieza manual y automática CIP. (16)

Tabla N° 1 Diferencia entre etapas de limpieza manual y CIP.

Limpieza manual	Limpieza CIP
1. Desmontaje de las piezas del equipo.	1. Pre lavado con agua de red.
2. Pre lavado con agua de red (agua potable).	2. Lavado con solución de limpieza.
3. Lavado de las piezas con solución de limpieza.	3. Soplado con aire comprimido.
4. Enjuague de las piezas con agua de red.	4. Enjuague con agua de red.
5. Enjuague de las piezas con agua purificada.	5. Enjuague final con agua purificada.
6. Secado de las piezas (por lo general con aire caliente).	6. Soplado con aire comprimido.
7. Inspección visual para comprobar si las piezas del equipo están realmente limpias.	7. Secado con calor y aire comprimido.
8. Montaje de cada una de las piezas del equipo o máquina.	

Actualmente, es recomendable el uso y aplicación del lavado CIP para la limpieza de equipos por la confiabilidad y reproducibilidad que puede brindar este tipo de limpieza a diferencia de que la limpieza manual es más variable, pero igual de importante en los procesos que aún no se implementa el sistema CIP. (15)

2.3.3. Mecanismos de limpieza

Según Sinner, (19) el resultado final de limpieza o esperado, depende de cuatro factores muy importantes que están interrelacionados entre sí.



Fig. N°4 Factores que intervienen en la limpieza. Fuente: FAGOR, 2014 (19)

- **Acción mecánica:** Se trata de la aplicación de una acción física para eliminar la suciedad, en caso de las maquinas lavadoras puede ser el movimiento de cepillos que realiza en un túnel de lavado, en el caso de la limpieza manual, el movimiento que se realiza al restregar una superficie con un cepillo o paño. (20)
- **Acción química:** Este es uno de los factores importantes ya que son el conjunto de agentes de químicos que se emplearan para realizar la limpieza. Siempre se debe elegir el producto que mejor se adapte al tipo de limpieza a realizar y utilizar según las concentraciones recomendadas por parte del fabricante, para obtener mejores resultados sin exponer la salud de las personas ni dañar el entorno y las superficies tratadas. (20)
- **Temperatura del agua:** Desempeña un papel fundamental porque maximiza la efectividad del producto químico utilizado facilitando la limpieza de la suciedad, pero se tiene que tener precauciones en cuanto al material que se desee limpiar, porque si bien es cierto que es muy útil para realizar la limpieza de suciedad de origen graso hay materiales que no resisten las altas temperaturas que alcanza el agua, por ello se tiene que respetar las recomendaciones del fabricante. (20)
- **Tiempo de acción o contacto:** Es el tiempo empleado para que el agente químico (detergente) reaccione con la suciedad. este factor es

influenciado por el tipo de superficie que se desee limpiar, la cantidad de suciedad acumulada en la misma, el producto químico a utilizar y el tipo de limpieza a emplear (si es manual semiautomática o automática). (20)

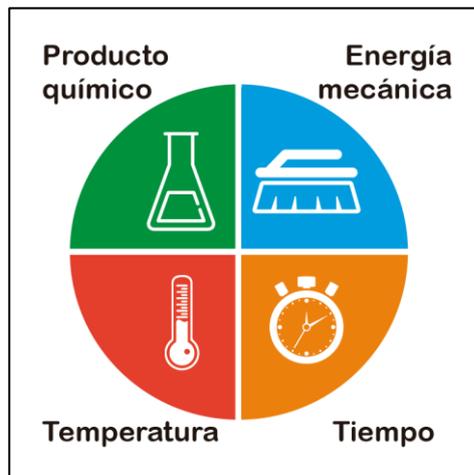


Fig. N°5 Círculo de Sinner, (20)

Estos cuatro factores son variables y se combinan de distintas formas según la suciedad, la superficie que se tenga que limpiar y los medios que se disponga para, gracias a las técnicas que se utilicen, ir reduciendo el tiempo empleado sin aumentar de resto de los factores. *“Si uno de los factores disminuye, este se compensará por uno o más de los restantes para obtener una buena calidad final en el proceso de lavado”* (20).

2.3.4. Niveles de métodos de limpieza

Se pueden definir tres tipos y su implicación en la validación será diferente:

A. Métodos de limpieza seriales, ordinario, simple o nivel I

Este método se aplica cuando se fabrican lotes consecutivos del mismo producto, o de diferente concentración siempre y cuando hayan sido fabricados de menor a mayor concentración. En este caso la validación no es requerida o si se realiza una, se valida de forma reducida. (4)

B. Método de limpieza no serial, general, radical o nivel II

En este método los residuos se eliminan de forma exhaustiva. Este tipo de limpieza se realiza cuando se fabrican lotes con distintos APIs, después de haber realizado cierto número de limpiezas menores o

después de un mantenimiento preventivo y como tal, se debe validar de forma completa. (4)

C. Métodos de limpieza de repaso o tras inactividad o nivel III

Este tipo de limpieza se realiza después de fabricar productos de alta toxicidad, altamente reactivos, después de una remodelación del área o cuando la vigencia de la limpieza ha caducado tras haber permanecido por un periodo de inactividad o desuso. La validación que se realiza para este tipo de limpieza es de manera reducida centrada mayormente en el control microbiológico. (4)

Tabla N° 2 Niveles de métodos de limpieza (DIGEMID)

Nivel	Riesgo	Limites	Limpieza	Verificación
I	Bajo	Amplios	Menor	Visual
II	Alto	Estrechos	Mayor	Analítica
III	Alto	Estrechos	Exhaustiva	Analítica

Fuente: Ministerio de Salud del Perú (4)

2.3.5. Tipos de equipos según el uso

Según el uso, los equipos en una planta farmacéuticas pueden ser de dos tipos: (6)

1. Equipos destinados a un producto

Son instalaciones y equipos especiales, dedicadas al procesamiento de un producto (os) en particular con el mismo principio activo (os) farmacéutico (API), a diferentes concentraciones o APIs similares, de la misma familia terapéutica, estas instalaciones son requeridas en casos en donde los APIs son muy tóxicos o muy alergénicos que tienen un nivel de aceptación relativamente bajos. La limpieza para este tipo de equipos se realiza bajo condiciones muy extremas y con implementos de seguridad adecuados. (6)

2. Equipos polivalentes

En general son equipos destinados al procesamiento de diferentes APIs (de uso general), para lo cual es necesario contar con un proceso de

limpieza eficiente y validado que evitara con toda seguridad, cualquier riesgo de contaminación cruzada. (6)

2.4. AGENTES DE LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

Son productos utilizados para las diferentes etapas de prelavado, lavado y enjuague final de máquinas, equipos, utensilios y ambientes con la finalidad de eliminar y limpiar los contaminantes que pudieran existir en las superficies, estos son: (4)

2.4.1. Agua

El agua para la limpieza de utensilios y equipos debe ser bacteriológicamente potable y de buena calidad fisicoquímica y siempre que sea posible, se lavara con agua por su alto poder disolvente. En el proceso de prelavado se suele utilizar agua de calidad inferior a la utilizada en el proceso productivo (agua potable), este se puede utilizar como agua sola, a presión, a temperaturas elevadas o en forma de vapor. (4)

2.4.2. Disolventes

Los disolventes se utilizan en el caso de una insolubilidad del contaminante en medio acuoso estos disolventes pueden ser polares (Metanol, Etanol, glicoles, etc.) y no polares (metilcetona y diclorometano). (4)

2.4.3. Detergentes

Están formados por moléculas constituidas por una cadena hidrocarbonada insoluble con afinidad por las grasas (lipofílica), y por otra parte iónica, cargada, que es soluble en agua (hidrofilia o hidrosoluble). Los detergentes son combinaciones de sustancias químicas que tiene la propiedad química de disolver la suciedad o impurezas de una superficie u objeto. Modifican las propiedades fisicoquímicas del agua (reduce la tensión superficial) actuando así, como un agente humectante, solubilizante, emulsificante y dispersante para la eliminación de los residuos o contaminantes. (4) (14)

En la mayoría de los procedimientos de limpieza se utilizan uno o más detergentes para obtener una superficie limpia. Los detergentes deben tener características de ser solubles en agua, no dañar la superficie a tratar, no dejar manchas y no ser tóxicos. (22)

La mayoría de detergentes se basan en dos categorías de productos: (14)

- **categoría 1:** compuesta por 80-95% de detergente alcalino y de 5-20% de tensoactivos, dispersante, quelante, enzima, etc.
- **categoría 2:** compuesta por 80-95% de detergente ácido y 5-20% de tensoactivos, dispersante, quelante, enzima, etc.

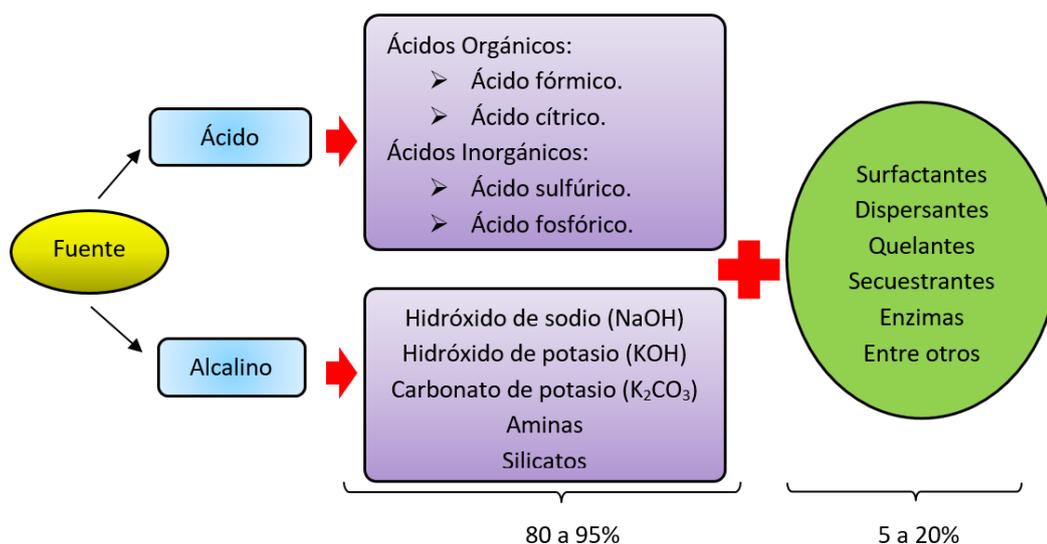


Fig. 6 Composición de los detergentes (14)

Para elegir el tipo de detergente a usar, se debe tomar en cuenta las características fisicoquímicas, ingredientes, riesgos en la salud, reactividad, síntomas de sobreexposición, precauciones para su uso, así también conocer la superficie de aplicación, considerar la dureza del agua, el pH y su temperatura. (21)

Los detergentes se clasifican según su comportamiento para disolver la suciedad: (22)

1. Detergentes alcalinos o básicos:

Son detergentes que presentan pH superior a 7.0, su propiedad fundamental es que saponifica las grasas y reacciona con los productos de la saponificación, con los constituyentes ácidos de los mismos. Permite la formación de aniones a partir de los residuos de grasa por ello cuanto más elevado sea el pH, mayor será el poder desengrasante, actúan mediante la solubilización y desengrasado de la suciedad. Están

- **Naturaleza de la suciedad.** Para la elección del agente se debe conocer la naturaleza de la suciedad si es orgánico o inorgánico (carbohidrato, proteína, grasas o sales), si está fuertemente adherido a la superficie (quemadura, caramelizaciones, etc.) o si esta adherido de forma normal, los detergentes alcalinos son los más indicados. (22)
- **Estado de la suciedad.** De acuerdo a que la suciedad se encuentre húmedo o seco se eligen el tipo de detergente más adecuado. (22)
- **Naturaleza de la superficie.** El detergente de elección debe tener baja capacidad de corrosión, ya que mantener la integridad de la superficie es un factor crítico. El acero inoxidable es inerte a la mayoría de los detergentes cuando estos son aplicados de forma adecuada siguiendo las recomendaciones del proveedor. (22)
- **Método de aplicación.** Se debe conocer cómo será aplicado, si será de forma automática o manual, que incluya un contacto con las manos por periodos cortos o largos. Si existe un periodo prolongado de contacto del detergente con la piel, se debe utilizar un detergente cuya alcalinidad no sea superior a las 300 ppm (expresada como óxido de sodio) y el pH debe ser regulada en la formulación (datos que deben ser adjuntados y especificados al proveedor), si el contacto del detergente con la piel es por periodos cortos, la alcalinidad puede ser de hasta 500 a 900 ppm. (22)
- **Temperatura de aplicación.** La acción limpiadora de los detergentes se incrementa al incrementar la temperatura. En un proceso de limpieza manual se debe tomar medidas de seguridad y utilizar la solución de detergente sin exceder los 45 – 50°C. (22)
- **Compatibilidad con el agua.** El agente de elección no debe precipitar las sales disueltas en el agua (dureza), la adición de secuestrantes (quelante) a la formulación del detergente, evita esta reacción. (22)
- **Concentración del detergente.** Los resultados esperados de limpieza se logran solo cuando se hace un correcto uso de los detergentes, en las concentraciones establecidas por el proveedor, debe también ser fácil de eliminar y cuantificable a concentraciones bajas. Este último parámetro es imprescindible para la validación de limpieza. Si un agente

de limpieza no logra con la limpieza deseada, se debe optar por otro ya que al variar las concentraciones se podría correr el riesgo de corroer el material o superficie. (22)

- **Toxicidad.** El detergente de elección debe ser lo menos toxico posible para el personal que lo manipule y para el medio ambiente. (21)

suciedad	Familia	Ejemplo de productos	Características principales
Azúcares solubles	Alcalinos	Sosa Potasa	Solubilizante Saponificante
Otros hidratos de carbono	Alcalinos		
	Productos enzimáticos		Hidrolizante Desagragante
Proteínas	Alcalinos	Sosa Potasa	Solubilizante Saponificante
	Productos enzimáticos	Proteasas	Hidrolizante Desagragante
Materias grasas	Tensioactivos	Aniónicos Catiónicos No iónicos	Humectante emulsificante
	Productos enzimáticos	Lipasas	Hidrolizante Desagragante
Minerales	Acidos	Clorhídrico Nítrico Fosfórico	Solubilizante
	Secuestrantes (quelantes)	EDTA Polifosfatos Gluconato	Secuestrante
Sarro enológico	Alcalinos	Sosa	Solubilizante

Tabla N°3 Clases de suciedad y sus detergentes respectivos. (22)

2.4.5. Desinfectante o sanitizante

La desinfección es proceso que elimina la mayoría o todos los microorganismos patógenos, con excepción de esporas bacterianas, de objetos inertes. (*American Journal of Infection Control*). En general, los desinfectantes tienen doble acción, son detergentes y desinfectante a la vez (detergentes ácidos y alcalinos), estos agentes físicos o químicos reducen la contaminación microbiana presente en las superficies inertes. Hay muchos tipos de desinfectantes químicos que pueden o no necesitar enjuague antes de iniciar el proceso productivo, dependiendo del tipo y

concentración utilizado. Su tiempo de acción es inmediato y se recomienda no utilizar siempre el mismo desinfectante, para evitar el desarrollo de resistencia bacteriana. Existen dos métodos generales de desinfección (23)

1. Desinfección por métodos físicos.

Se hace uso de la temperatura, como vapor (110 a 130°C) o agua caliente de 80 – 100°C (tuberías y equipos), radiación UV a longitudes de onda de 240 a 480 nm (bajo nivel). El uso de agua caliente es un método efectivo y no selectivo de desinfección de superficies, sin embargo, las esporas pueden permanecer vivas incluso después de una hora. El uso de agua caliente presenta numerosas ventajas por ser de fácil acceso, económico y no tóxico. (4, 23)

2. Desinfección por métodos químicos.

Entre los productos de desinfección de más uso se tiene lo siguiente: (4, 21, 23)

a. Desinfectantes oxidativos:

- **Compuestos de cloro.** Los hipocloritos (NaOCl , Ca(OCl)), son los más utilizados, típicamente se utilizan de 50 a 200ppm (50-200mg/L), presentan un amplio espectro contra microorganismos, pero en casos que no pueda asegurar la limpieza absoluta, se recomienda el uso de una dilución de 100mg/L o más. Son efectivas contra las esporas y pierden su eficacia en presencia de residuos orgánicos. El hipoclorito de sodio (lejía), no debe ser aplicado directamente a las superficies porque es corrosiva para los metales; tampoco se debe mezclar con productos amoniacales ni ácidos, porque desprende gases tóxicos. (23, 24)

- **Compuestos de yodo (Iodoforos).** Típicamente se utiliza entre 15.5 a 25ppm, tras su aplicación se requiere un enjuague a fondo puesto que también corroen los metales, es menos eficaz contra esporas y pierde su eficacia en presencia de los residuos orgánicos al igual que los compuestos hipocloritos. (23, 24)

- Ozono.
- Peróxido de hidrogeno.

b. Desinfectantes no oxidativos:

- **Compuestos de amonio cuaternario (Quats).** Es un tipo de detergente catiónico (no corrosivo), pobre como detergente, pero es un excelente germicida. Son menos eficaces contra bacterias con respecto a los indicados anteriormente, se dosifican de entre 200 a 400 ppm. (23, 24)
- **Tensoactivos anfóteros.** Presentan actividad detergente y bactericida, son de escasa toxicidad y relativamente no corrosivo, pero son inactivados por la materia orgánica. (23, 24)
- **Compuestos fenólicos.** Su espectro y actividad, son semejantes a los hipocloritos y compuestos yodados. No son inactivados fácilmente por la materia orgánica, pero lo son por plásticos y caucho. (23, 24)
- **Ácidos y álcalis fuertes.** Además de ser detergentes, presentan actividad antimicrobiana. (23, 24)

2.4.6. Niveles de desinfección

Estos niveles se basan en el efecto microbicida de los agentes químicos sobre los microorganismos y pueden ser: (24)

- ***Desinfección de alto nivel (DAN):*** Es realizada con agentes químicos líquidos que eliminan a todos los microorganismos. Como ejemplos: el orthophthaldehído, glutaraldehído, ácido peracético, dióxido de cloro, peróxido de hidrógeno y formaldehído, entre otros. (24)
- ***Desinfección de nivel intermedio (DNI):*** Se realiza utilizando agentes químicos que eliminan bacterias vegetativas y algunas esporas bacterianas. Aquí se incluyen el grupo de los fenoles, hipoclorito de sodio, alcohol, cetrimida y cloruro de benzalconio. (24)
- ***Desinfección de bajo nivel (DBN):*** Es realizado por agentes químicos que eliminan bacterias vegetativas, hongos y algunos virus en un período de tiempo corto (menos de 10 minutos). Como, el grupo de amonios cuaternarios. (24)

2.4.7. Factores que afectan la efectividad del proceso de desinfección

- **Tiempo de contacto:** Se debe permitir el tiempo de exposición suficiente para que ocurra la reacción química que destruirá al microorganismo. El tiempo requerido no solo dependerá de los demás factores, sino que también de la naturaleza del microorganismo, según el estado vital del mismo, la formación de esporas y otros factores fisiológicos. (25)
- **Temperatura de la solución:** El incremento de la temperatura aumenta la acción de los desinfectantes porque, las reacciones químicas son aceleradas y también se disminuye la tensión superficial, la viscosidad, se incrementa el pH y otros cambios que mejoran la acción germicida. Pero también la temperatura alta hace que los compuestos de cloro sean más corrosivos y los compuestos de yodo tienden a evaporarse a temperaturas de 49°C. (25)
- **pH de la solución:** Este factor ejerce influencias importantes en la acción de muchos desinfectantes como los compuestos cuaternarios, que presentan distintas acciones microbidas según la variación del mismo, los compuestos de cloro y yodo por lo general disminuyen su efectividad al reducir el pH. (25)
- **Concentración del agente de desinfección:** En general cuanto más concentrado es la solución desinfectante, más rápido y certera es la acción del mismo, pero en un cierto punto alcanza el equilibrio y que, a partir de este, la eficacia disminuye, es por ello que los desinfectantes se deben utilizar en los rangos correctos de desinfección. (25)

2.5. SALAS BLANCAS

En el ámbito farmacéutico se define como áreas diseñadas, construidas y mantenidas con el objeto de tener dentro de los límites establecidos el número de partículas viables y no viables en superficies y medio ambiente (1).

La norma ISO 14644-1: 2015 señala que, una sala limpia o blanca como una habitación en el que se controla y clasifica la concentración de numero de

partículas en el aire y que está diseñado, construido y operado de una manera para controlar la introducción, generación y retención de partícula dentro de las habitaciones y en la que además se pueden controlar otros parámetros ambientales como temperatura, humedad y presión. (26)

2.5.1. Clasificación de las salas blancas

La normativa ISO 14644-1:2015, clasifica las salas blancas según el número de partículas sólidas por m³ de aire y el tamaño de estas partículas las que varían entre 0.1µm y 5 µm. En la tabla N°5, se indica la clasificación de salas blancas y ambientes controlados en función del tamaño y cantidad de partículas. (26)

Tabla N° 4 Clasificación ISO en función al tamaño y cantidad de partículas contenidas en el aire para salas limpias y zonas anexas

Número de clasificación N de ISO	Valor máximo de concentración de partículas (partículas por m ³ de aire) igual o mayor a los tamaños identificados en el cuadro inferior					
	0,1 µm	0,2 µm	0,3 µm	0,5 µm	1 µm	5 µm
Clase ISO 1	10	2	-	-	-	-
Clase ISO 2	100	24	10	4	-	-
Clase ISO 3	1 000	237	102	35	8	-
Clase ISO 4	10 000	2 370	1 020	352	83	-
Clase ISO 5	100 000	23 700	10 200	3 520	832	29
Clase ISO 6	1 000 000	237 000	102 000	35 200	8 320	293
Clase ISO 7	-	-	-	352 000	83 200	2 930
Clase ISO 8	-	-	-	3 520 000	832 000	29 300
Clase ISO 9	-	-	-	35 200 000	8 320 000	293 000

Fuente: Normas ISO14644-1:2015 (27)

En las Normas de Correcta Fabricación de la Unión Europea (NCF) o Good Manufacturing Practices (GMP EU), dedicado a la Fabricación de medicamentos estériles se establece la clasificación de estas zonas limpias por su grado de limpieza de aire. En la tabla Nª 6, se definen 4 grados: A, B, C y D, en base a la máxima concentración de partículas permitidas en el aire. (27)

Tabla N° 5 Calificación GMP de salas blancas según el grado de limpieza de aire

	Número máximo de partículas de tamaño igual o superior al indicado en la tabla permitido por m ³			
	En reposo		En funcionamiento	
Grado	0,5 µm	5 µm	0,5 µm	5 µm
A	3.520	20	3.520	20
B	3.520	29	352.000	2.900
C	352.000	2.900	3.520.000	29.000
D	3.520.000	29.000	Sin definir	Sin definir

Fuente: Normas ISO14644-1:2015 (27)

La relación entre ambas queda establecida como sigue: (28)

- **Para el grado A**, la clasificación de partículas del aire es la ISO 4.8 que indica un límite de tamaño de partícula $\leq 5.0 \mu\text{m}$.
- **Para el grado B (en reposo)**, la clasificación de partículas del aire es la ISO 5 para los dos tamaños de partículas considerados.
- **Para el grado C (en reposo y en funcionamiento)**, la clasificación de partículas del aire es la ISO7 y la ISO 8, respectivamente.
- **Para el grado D (en reposo)**, la clasificación de partículas del aire es la ISO 8.

El límite de clasificación considerada por la GMP de la UE es de $0.5 \mu\text{m}$ y $5 \mu\text{m}$, reside el hecho que, partículas $\geq 0.5 \mu\text{m}$, son capaces de transportar microorganismos que en general miden $0.3 \mu\text{m}$. Las partículas que son aerotransportadas poseen formas variables y están compuestas de todo tipo de material. Además, pueden actuar como transportadoras de bacterias, de ahí se distingue entre partículas viables como bacterias, hongos, mohos, esporas y no viables o inertes como sustancias orgánicas, inorgánicas, metales, etc. (28)

Para el control microbiológico de las salas blancas la agencia española de medicamentos mediante la guía de normas de correcta fabricación, recomienda el uso de filtros HEPA (*High Efficiency Particle Arrestance*); por otro lado, se recomienda el uso de desinfectantes variados para paredes, techo, pisos y mesas de trabajo. Un programa de rotación de desinfectantes

es indispensable para evitar que los microorganismos adquieran una posible resistencia. (28)

2.6. FUENTES DE CONTAMINACION DE SALAS BLANCAS

La fuente de contaminación de las salas blancas depende de la procedencia del agente contaminante, conocer el origen, es importante para controlar ingreso de contaminantes; garantizando así la asepsia de la sala. Las fuentes de contaminación más comunes son:

- a. **Las personas:** el personal que labora en la sala son portadores de contaminantes como partículas, restos de maquillaje, caspa y microorganismos de la flora normal como *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Streptococcus α-hemolíticos*, *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sanguis*, *Streptococcus mitis*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Salmonella spp*, entre otros.
- b. **La atmosfera:** Es fuente de contaminantes físicos como partículas, humedad, calor y gases.
- c. **Agua:** Es fuente de metales pesados, bacterias, electrolitos, partículas, etc. Es uno de los insumos que se requiere en cantidades considerables en la industria farmacéutica.

A pesar de las medidas de seguridad para el personal y la sala limpia es importante mantener protocolos de limpieza para evitar la acumulación de polvo, suciedad y minimizar la contaminación a través del manejo de un programa de rotación de desinfectantes. (28)

2.7. VALIDACIÓN

Es la acción documentada de probar que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, material de vidrio, actividad o sistema conduce realmente al resultado esperado. (1)

Es la obtención de pruebas que documentalmente demuestran de que un método de fabricación o control es lo suficientemente fiable para producir el resultado previsto dentro de intervalos definidos. (29)

La validación es una parte esencial de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), se considera dentro del programa de la garantía de la calidad asociando a un producto, proceso o método que tiene por objeto establecer confianza de que los productos fabricados cumplirán sistemáticamente con las especificaciones pre-establecidas. (30)

Se valida procesos de manufactura, sistemas de agua y aire, procesos estériles, métodos analíticos y procedimientos de limpieza y sanitización. Es decir, cualquier aspecto, incluyéndolos cambios significativos en las instalaciones, sistemas, equipos, procesos que pueden afectar directa o indirectamente la calidad del producto (31). Se consideran cuatro tipos de validación:

2.6.1. Validación concurrente

Se realiza durante la manufactura de un producto y recoge los datos generados en el instante de la ejecución de un proceso que ya está implementado en una planta de producción. Se requiere tres lotes continuos. (1) Este método puede ser adecuado para los fabricantes que ya están bien establecidos y que tienen un proceso de fabricación bien controlado. (32)

2.6.2. Validación prospectiva

Validación que se realiza antes de la distribución del producto y después de la transferencia de tecnología. Se hace antes de una fabricación industrial, se lleva a cabo durante la etapa de desarrollo del proceso productivo. También se requiere tres lotes del producto. (1)

2.6.3. Validación retrospectiva

Se realiza en la manufactura de procesos que ya se realizaron, se debe hacer una revisión de lotes suficientes para mantener la reproducibilidad de sus condiciones (1). Se basa en datos históricos sin la necesidad de que se haya efectuado un cambio en los procesos o métodos. (6) Solo es aceptable en procesos bien establecidos que no hayan sido modificados.

Generalmente esta forma de validación, no se acepta por falta de protocolos de validación indicando la falta de documentos, además el

análisis retrospectivo se realiza con un sistema, equipo o proceso que no haya sido sometido a ninguna revisión, reparación o modificación. Respecto a las pruebas analíticas, es posible analizar retrospectivamente si se cuenta con datos suficientes. (32)

2.8. REVALIDACIÓN

Es la repetición parcial o total de una validación debido a cambios realizados en la fórmula maestra, fabricante de materia prima, equipo o instrumentos, material de envasado, procesos de fabricación, controles durante el proceso, áreas de fabricación o sistemas de apoyo, los que también se puede revalidar para demostrar su vigencia si es que no sufrieron ningún cambio. (1)

2.9. VALIDACIÓN DE PROCESOS DE MANUFACTURA

Evidencia documentada la cual proporciona un alto grado de seguridad que un proceso específico resultara consiste en un producto que reúne sus especificaciones pre-determinadas y sus características de calidad. (33)

Los parámetros del proceso y los atributos críticos se deben controlar y vigilar durante los estudios de validación, para comprobar la reproducibilidad y consistencia de un proceso se debe utilizar equipos, sistemas de uso, proveedores, áreas y personal calificado. La comprobación se debe dar tres veces consecutivas como mínimo obteniendo resultados congruentes con los obtenidos posteriormente en la revisión del producto. Este estudio se debe realizar antes de la distribución de un nuevo producto. Las etapas en el proceso deben estar bajo control para maximizar la probabilidad de que el producto terminado cumpla con todas las especificaciones de calidad y diseño. (1)

2.10. VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

Evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza aprobado ya sea para áreas o equipos usados en la fabricación de productos farmacéuticos, elimina los residuos (agente de limpieza o principio activo) a un nivel aceptable, es decir confirma la eficacia del método de limpieza. (4) Está basada en la solubilidad y dificultad de eliminación de un residuo, para su cuantificación requiere de métodos analíticos validados que sean altamente sensibles para la determinación de trazas o concentraciones pequeñas. Sin embargo, la FDA no

establece especificaciones de aceptación o métodos para determinar si un proceso de limpieza está validado debido a la amplia variación en los equipos de manufactura utilizados y a la fabricación de diversos productos. Los límites de residuos establecidos se deben basar en la experiencia y conocimiento del fabricante. (3)

Según las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) (1), la validación debe reflejar los patrones actuales de uso de equipo, si varios productos son procesados en el mismo equipo y limpiado usando el mismo proceso de limpieza, se elige un producto representativo para la validación o tomar en cuenta el criterio de “peor caso”, el cual se basa en la solubilidad y dificultad de limpieza y los cálculos de límites residuales en base a la concentración, toxicidad y estabilidad. (1)

2.11. VALIDACIÓN DE MÉTODOS ANALÍTICOS

Es la comprobación documentada de que un método analítico es fiable para su aplicación rutinaria, su objetivo es demostrar que es apropiado para el uso previsto. Los métodos analíticos no farmacopeicos se deben validar de acuerdo a un protocolo de validación, los resultados generados se documentan en un informe de validación, los parámetros que se considera son precisión, especificidad, límite de detección, límite de cuantificación, linealidad, exactitud y robustez dependiendo de la naturaleza del método. (1)

Para validar procesos de limpieza, se requiere que los métodos analíticos sean altamente sensibles y específicos, que sean capaces de detectar concentraciones mínimas de residuos y contaminantes, las empresas desafiar al método analíticos tratando de cuantificar concentraciones cada vez más pequeñas, y si no se encontrase trazas de un contaminante significa que los niveles de contaminante mayores que la sensibilidad o el límite de detección del método analítico no están presentes en la muestra.(3)

Según la USP, la validación de un procedimiento analíticos es el proceso que establece a través de estudios de laboratorio, que las características de desempeño del procedimiento cumplen los requisitos para las aplicaciones analíticas previstas; se deben validar los métodos analíticos cada vez que haya

cambios en la síntesis del fármaco, cambios en la composición del producto farmacéutico y cambios en los procedimientos analíticos. (34)

2.10.1. Características del desempeño analítico

1. Fiabilidad

Son características que demuestran la capacidad de un método analítico para mantener a lo largo del tiempo los criterios fundamentales de validación (linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad). (29)

2. Practicabilidad

Son características que deciden si el procedimiento analítico es fácil o difícil de realizarse en la práctica. Durante el desarrollo del método analítico se evalúa el coste de material, reactivo, calificación de personal, tiempo, aparatos y equipos y la complejidad del método. Teniendo en cuenta los objetivos del método si es desarrollado para un área de investigación y desarrollo o si es para un área de control de la calidad. (29)

3. Idoneidad

Garantiza que el sistema responde a las condiciones a las que está sujeta durante la práctica, es decir que los requisitos fijados durante la validación del método se cumplan (platos teóricos, resolución, simetría, asimetría, tiempo de retención, etc.) La idoneidad verifica el buen funcionamiento del sistema (instrumento y método) en el momento de su aplicación. (29)

4. Exactitud

Es la proximidad entre los resultados de la prueba obtenidos mediante ese procedimiento y el valor verdadero. Se determina mediante la aplicación de un procedimiento analítico con respecto a un analito de pureza conocida (estándar de referencia) o comparando los resultados con los de un segundo procedimiento bien caracterizado, cuya exactitud ya está definida. La exactitud se calcula como el porcentaje de recuperación de la cantidad valorada con respecto a la cantidad conocida de analito añadida a la muestra. Para su evaluación, el intervalo de confianza para la pendiente está comprendido dentro de un

intervalo alrededor de 1.0 o que el valor de la, pendiente sea cercano a 1,0; en ambos casos estos intervalos deben especificarse en el protocolo de especificación. (34)

No se deben confundir precisión y exactitud, la precisión está relacionada con la dispersión de una serie de mediciones que no están cerca al valor verdadero, puede haber mediciones muy precisas, pero poco exactas, sin embargo, para que un método sea exacto se requiere un cierto grado de precisión. (29).

La falta de exactitud se puede dar por defecto por exceso:

- ❖ **Por exceso:** Los resultados obtenidos suelen ser superiores a los valores verdaderos, se da por interferencias analíticas, porque el método no es muy selectivo. (29)
- ❖ **Por defecto:** Se da en métodos analíticos que tienen varias fases para obtenerlos resultados, es decir que son muy laboriosos, etapas en la que la exactitud puede ir disminuyendo y el porcentaje de recuperación. (29)

5. Precisión

Es el grado de concordancia entre los resultados de las pruebas individuales cuando se aplica el procedimiento (análisis) repetitivamente a múltiples muestras de una misma mezcla. La precisión se expresa como la desviación estándar o desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones a una mezcla. Este concepto no está muy lejano de Precisión intermedia, que expresa la variación dentro de un mismo laboratorio; así como realizar los análisis en diferentes días, con diferentes analistas o equipos diferentes. Se determina mediante el análisis de un número suficiente de alícuotas de muestra homogénea que permita calcular estimaciones validas de la desviación estándar o de la desviación estándar relativa (coeficiente de variación). (34)

6. Especificidad

Es la capacidad de evaluar individualmente un analito que se encuentra en medio de otros componentes, de tal forma que permite su identificación, es decir es la capacidad de detectar el analito sin interferencias de ningún otro compuesto (impurezas, productos de degradación, excipientes (placebo), lográndose que el método analítico sea específico para el analito. Para análisis de identificación, la especificidad debe distinguir el compuesto, mediante comparación con un estándar conocido; para impurezas, la especificidad puede establecerse mediante la adición al fármaco o producto farmacéutico de una cantidad de impurezas en concentraciones adecuadas, demostrar que estas impurezas se determinan con exactitud y precisión. Respecto a las valoraciones el método analítico debe ser específico para el analito, sin tomar en cuenta interferencias de excipientes, productos de degradación o impurezas. (34)

7. Límite de detección (LD)

Es la cantidad mínima de analito detectable en una muestra, comprobando que la cantidad de analito se encuentran por encima o por debajo de un determinado nivel, se expresa normalmente como concentración. (Porcentaje, partes por millón). Es un parámetro analítico necesario en ensayos de límite, análisis de trazas, contaminantes y productos de degradación.

8. Límite de Cuantificación (LC)

Es la concentración más baja que se puede cuantificar con una exactitud y precisión aceptable, bajo las condiciones del método analítico. (34)

9. Linealidad

Es la capacidad del método analítico para obtener resultados de prueba que sean directamente proporcionales a la concentración de analito en muestras dentro de un intervalo dado; el intervalo de un procedimiento analítico es la amplitud entre las concentraciones inferior y superior del analito. (29)

Se recomienda que se utilicen mínimamente cinco concentraciones, sin embargo, para determinación del contenido de un fármaco la linealidad debe estar de 80% a 120% de la concentración de prueba, para impurezas del 50% al 120%. En caso de uniformidad de contenido, del 70% al 130% y para pruebas de disolución del 10% al 110%. La linealidad se debe establecer mediante métodos estadísticos, así como la línea de regresión que se calcule con los datos de cuadrados mínimos, coeficiente de correlación, intersección con el eje de ordenadas, pendiente de la línea de regresión y la suma de cuadrados residuales. Si no se da la linealidad, se puede utilizar un modelo no lineal, el objetivo es obtener un modelo que describa con precisión la relación concentración: respuesta. (34)

10. Robustez

Es la capacidad del método analítico de no ser afectado por pequeñas variaciones, se puede determinar la influencia de cambios en las condiciones analíticas sobre la fiabilidad del método, logrando ubicar los factores que originan fluctuaciones menores y los que requieren de mayor atención. (34)

La importancia de este estudio se da en análisis de series grandes y el tiempo transcurrido entre su primer y último análisis, justificando la estabilidad del analito ante distintos factores de variabilidad. (29)

2.12. FACTOR DE RECUPERACIÓN

Fracción de analito que se agrega a una muestra de ensayo antes del análisis, con el objetivo de evaluar la eficiencia del método para detectar todo el analito presente en una muestra. Se realiza para evaluar la aplicabilidad del método analítico y el procedimiento de muestreo para recuperar residuos de las superficies que tienen contacto con el producto mediante un muestreo y método analítico. Los estudios de investigación abarcan distintos niveles de determinaciones y evaluaciones subjetivas, por lo que se requiere de diferentes esquemas de validación. (29)

2.11.1. Categorías del Factor de Recuperación

La USP divide por categorías los parámetros requeridos para la amplia variación de tipos de pruebas. (34)

a. Categoría I

Abarca los procedimientos analíticos para cuantificar principios activos o excipientes en productos a granel o producto terminado.

b. Categoría II

Considera las pruebas analíticas para la determinación de impurezas o productos de degradación.

c. Categoría III

Procedimientos analíticos para el estudio de las características de desempeño como pruebas de disolución, liberación de fármacos, etc.

d. Categoría IV

Implica los test para identificación de cualquier componente.

Tabla N° 6 Datos requeridos para procesos de validación

Características de desempeño analítico	Categoría I	Categoría II		Categoría III	Categoría IV
		Análisis cuantitativo	Pruebas de limite		
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad	Si	Si	Si	*	Si
Límite de detección	No	No	Si	*	No
Límite de cuantificación	No	Si	No	*	No
Linealidad	Si	Si	No	*	No
Intervalo	Si	Si	*	*	No

*Puede ser dependiendo de la naturaleza de la prueba específica.

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos, USP 41. (34)

2.13. DOCUMENTOS DE VALIDACIÓN

2.12.1. Protocolo de validación

Es un documento escrito que indica cómo se llevará a cabo la validación, en ella figura el nombre del laboratorio, nombre del producto, forma

farmacéutica, título del estudio de validación, incluye los objetivos, alcances, responsabilidades, tipo de validación, descripción del proceso, resumen de equipos, sistemas, áreas, instrumentos, método o proceso objeto de estudio, análisis de riesgo, definición de puntos críticos, criterios de aceptación, recursos a utilizar. (1)

2.12.2. Informe de validación

Es un documento que se redacta después de llevar a cabo el desarrollo de la validación, en esta información figura los resultados de las determinaciones de cada parámetro del desempeño analítico, discusión de los resultados y conclusiones, además debe ir el nombre del laboratorio, nombre del producto, cantidad de ingrediente farmacéutico activo (IFA), forma farmacéutica, título del estudio de validación, firmas de los responsables y fechas de aprobación y emisión. (11).

2.14. ETAPAS DEL PROCESO DE VALIDACIÓN

2.13.1. Plan maestro de validación

Es un documento general que da una visión global del proyecto de validación en él se recoge los objetivos generales y específicos, el alcance de las áreas que cubre el proyecto, las responsabilidades de los miembros del comité de validación en él se detalla las tareas de cada miembro, los criterios de aceptación a tomar, la metodología de análisis, formatos de documentación y las calificaciones de equipos, instalaciones, áreas y materiales. (32)

2.13.2. Calificación de equipos

La definición de la calificación coincide con la de validación. Por ello calificación se define como la operación por la que se comprueba que un equipo funciona correctamente y produce realmente los resultados previstos. En ocasiones, el término validación se amplía para incluir el concepto de calificación. La BPM describe la necesidad de conocer y manejar correctamente los equipos que se utilizan en la elaboración y análisis de medicamentos, por lo cual implica realizar de manera permanente la verificación de acuerdo a programas escritos de verificación y calibración.

(1)

Según las ICH Q7 La calificación de un proceso que se divide en cuatro etapas: (35)

- **Calificación de diseño (DQ):** es la verificación documentada de que el diseño propuesto para las instalaciones, sistemas y equipos es adecuado para la finalidad prevista.
- **Calificación de instalación (IQ):** es la verificación documentada de que las instalaciones, sistemas y equipos, tal y como se han instalado o modificado, cumplen con el diseño aprobado y con las recomendaciones de fabricante.
- **Calificación del funcionamiento (OQ):** Es la verificación documentada de que las instalaciones, los sistemas y los equipos tal y como se han instalado o modificado, funcionan de manera deseada en todos los rangos de funcionamiento provistos.
- **Calificación de la ejecución del proceso (PQ):** Es la verificación de que los sistemas y los equipos, pueden funcionar de forma efectiva y reproducible de acuerdo al método de proceso aprobado y a las especificaciones del producto.

2.13.3. Cálculo de los criterios y determinación de los límites de aceptación

El criterio empleado para demostrar la efectividad del método de limpieza se basa en definir la cantidad de residuos de un producto que pueden ser arrastrados hacia el siguiente producto fabricado en el equipo. Por lo tanto, cuanto dosis de contaminante está presente en la dosis del siguiente producto fabricado en el equipo. A partir de todos los datos encontrados, se extrapolará para transformar dicho límite a una concentración de trabajo ($\mu\text{g/mL}$), concentración que será de inicio para el desarrollo y posterior validación de la metodología analítica a utilizar. Se consideran cuatro métodos a fin de determinar el límite de residuo aceptable y se toma como límite de aceptación la menor cantidad de contaminante a encontrar (el más estricto), luego de combinar todos los posibles contaminantes con los posibles contaminados aplicando los métodos siguientes: (36)

1. Limite según la dosis terapéutica

Se basa en la consideración de una cantidad permisible de residuo que luego de realizado el proceso de limpieza este pueda estar presente en el siguiente producto elaborado en el mismo equipo, sin presentar efectos adversos en la salud de la población. La mayoría de las presentaciones del límite de aceptación están basadas al límite de residuo de IFA en el producto terminado propuesto por *Fourman y Mullen*. Pero el establecimiento del límite de aceptación del contaminante no se debe basar solo en el API en estudio, sino que también es importante seleccionar los niveles de aceptación para residuos potenciales como los excipientes, productos de degradación, agentes de limpieza y microorganismos, como propone *LeBlanc*, en una de sus publicaciones del establecimiento de este parámetro. Los niveles de residuo serán determinados según el potencial farmacológico, seguridad, toxicidad, estabilidad y efectos de contaminación sobre el próximo producto. También para estimar los límites aceptables de residuo se debe tener en cuenta la vía de administración del producto, si se trata de un principio activo o un producto terminado, el límite de detección de la técnica analítica, el proceso de fabricación y la capacidad del procedimiento de limpieza. (36)

a. Limite basado en la dosis del residuo de API (Active Pharmaceutical ingredient) planteado por Fourman y Mullen: El cálculo del límite de aceptación de residuo (LAR) planteado por estos dos investigadores se basa solo en el residuo de IFA en estudio y se calcula como la relación entre la dosis diaria mínima de A (DDminA) y la dosis máxima diaria del próximo producto B a fabricarse (DDmaxB) multiplicado por un factor de seguridad (FS) y por el tamaño de lote del próximo producto B (TLprodB). (36)

$$LAR (ppm) = FS \times \frac{DDminA}{DDmaxB} \times TL prodB$$

Fuente: Establecimiento del límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción de la industria farmacéutica. (36)

Cuando se desconoce el siguiente producto a fabricar como normalmente ocurre en una planta de producción de medicamentos por situaciones de movimiento de producto, se elige para realizar el cálculo, la mayor de las dosis diarias y el menor tamaño de lote de entre todos los posibles productos a fabricarse después de realizado el producto A. El factor de seguridad (FS) se usa como un extra que provee protección, ya que el valor obtenido de los cálculos teniendo en cuenta este criterio es considerado como un valor seguro. Existen diferentes factores de seguridad en dependencia de la ruta de administración que se mencionan en la tabla N° 7. (36)

Tabla N° 7 Factor de seguridad según la vía de administración

Vía de administración	Factor de seguridad
Productos en fase de investigación	0.00001
Parenteral	0.0001
Oftálmica	0.0001
Oral	0.001
Tópica	0.01

Fuente: *Cleaning Validation for the 21st, FDA (3).*

b. Límite basado en la dosis de residuo en la muestra de análisis: La determinación de este límite fue desarrollada por *Destin LeBlanc*, se basa en la propuesta de cálculo de límite de aceptación de residuo (LAR) de *Fourman y Mullen* e incluye nuevos elementos en la fórmula para obtener así, el límite más adecuado y realiza un análisis por separado de cada uno de los límites a través de los cuales se obtiene el LAR en la muestra analítica. El procedimiento analítico mide el principio activo en disolución, como un resultado del hisopado y desorción del hisopo dentro de un disolvente adecuado, o por enjuague y la medición del principio activo dentro del disolvente de enjuague. Para determinar este límite se puede expresar de varias maneras y se precisa de la contribución de otros límites como: el límite de aceptación en el próximo producto (L1), límite de aceptación sobre la superficie de contaminación del equipo (L2) y límite de aceptación en la muestra a analizar (L3) (ecuaciones 1, 2 y 3). (36)

$$L1 \text{ (mg/g)} = \frac{DTminA(mg) \times FS}{DDmaxB(g)} \dots\dots (1)$$

$$L2 \text{ (g/cm}^2\text{)} = L1 \times \frac{TLprodB(g)}{SE \text{ (cm}^2\text{)}} \dots\dots\dots(2)$$

$$L3 \text{ (}\mu\text{g/mL)} = L2 \times \frac{ASM(\text{cm}^2)}{V \text{ (mL)}} \times 1000\mu\text{g/mg} \dots\dots (3)$$

Donde:

DTminA : Dosis terapéutica mínima diaria del ingrediente activo A elaborado (mg) para una persona adulta de 70 kg.

DDmaxB : Dosis diaria máxima del producto B a elaborarse (g).

FS : Factor de seguridad.

TLprodB : Tamaño de lote del producto B (g).

SE : Superficie del equipo en contacto con el producto (cm²).

ASM : Área de superficie muestreada con hisopo (cm²).

V : Volumen del solvente empleado en el hisopado (mL).

Por lo general $L1 < L2 < L3$, ya que $L3$ refleja el residuo de un pequeño volumen de muestra analizada. Por lo tanto, la expresión final del Límite de Aceptación de Residuo (LAR), según la dosis terapéutica se describe a continuación: (36)

$$\text{LAR} = \frac{DTminA(mg) \times FS \times TLprodB(g) \times ASM(\text{cm}^2)}{DDmaxB(g) \times SE \text{ (cm}^2\text{)} \times V \text{ (mL)}} \times 1000\mu\text{g}$$

2. Limite según la toxicidad del residuo

El uso de la dosis terapéutica o dosis farmacológica tomado como base en el cálculo del límite de aceptación, es útil para situaciones en donde el IFA presenta niveles de dosis terapéuticas conocidas, pero existen casos en donde no se cuenta con este recurso, como es el caso de los medicamentos en fase de investigación en donde la dosis terapéutica

aún no ha sido establecido por completo. También existen los residuos que no tienen dosis como los productos de degradación, los excipientes y los agentes de limpieza, en estas ocasiones el establecimiento del límite de aceptación, puede estar basado en la ingesta diaria aceptable o ADI (*Acceptable Daily Intake*, por sus siglas en inglés), el cual tiene en cuenta el efecto tóxico de la sustancia en el cuerpo. Este método se basa en los datos de toxicidad animal. Es así que LD₅₀ (Mean Lethal Dosis), es la dosis letal media o toxicidad aguda que provoca la muerte del 50% de animales de experimentación con la sustancia probada, usualmente se expresa en mg/kilogramo del peso del animal (3). Para efectuar una conversión correcta de los datos de toxicidad aguda en animales al ADI en humanos y establecer los límites se elige la misma vía de administración y la misma sustancia en ambos. Este valor de toxicidad animal se extrapola al hombre aplicando un factor determinado a partir de una extensa base de datos toxicológicos. Se basa en los componentes de ingesta diaria aceptable (ADI) y el Nivel de efectos no observables (NOEL). El ADI, puede calcularse de dos maneras: (36)

a. *De forma directa a través de la expresión:*

$$ADI (mg/día) = DL_{50}(mg/Kg) \times W(Kg) \times F$$

Dónde:

DL₅₀: Dosis letal 50 para animales de experimentación.

W: Peso promedio de persona adulta (70 Kg).

F: Resultado del producto del factor de seguridad (FS) por un factor adicional (FC).

FC: Factor de conversión (0.0005), determinado empíricamente a partir de modelos con animales desarrollado por *Layton* y col.

b. *De forma indirecta*, calculando primero el nivel de efectos no observables (NOEL, no observable effect level)

$NOEL = DL_{50} \times FC \times W$, entonces:

$$ADI(mg) = NOEL \times FS$$

Una vez estimado ADI, se determina la máxima traza permitida (MACO, del inglés Maximum Allowable Carry Over))

$$MACO = ADI \times \frac{TLprodB(mg)}{DDmaxB(g)}$$

Por consiguiente, se determina la ecuación para calcular el límite de aceptación de residuo en la muestra de análisis. (3)

$$LAR = \frac{DL_{50} \times FS \times 0.0005 \times 70 \times TLprodB}{SE \times DDmaxB} \times \frac{ASM}{V} \times 1000 \frac{\mu g}{mg}$$

Fuente: Establecimiento del límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción de la industria farmacéutica. (36)

Dónde:

DL₅₀ : Dosis letal 50 del producto A (mg/kg).

FS : Factor de seguridad para productos orales.

0.0005 : Factor de seguridad toxicológica, determinado empíricamente a partir de modelos con animales, desarrollado por *Layton* y col.

70 : Peso Promedio de un adulto (kg).

TLprodB : Tamaño menor del lote del producto B (mg).

SE : Superficie del equipo en contacto con el producto (cm²).

DDmaxB : Dosis diaria máxima del producto B(g).

ASM : Área de superficie muestreada con hisopo (cm²).

V : Volumen del solvente empleado en el hisopado (mL).

De la ecuación se puede apreciar que, la DDminA es sustituida por los factores de ADI. El LAR basado en la toxicidad, aunque no es el único método de determinación del límite cuando no existe una dosificación

conocida para el API en estudio, este es el más generalizado y aplicado. (36)

3. Método de las 10 ppm o por defecto

En el documento “Guía sobre validación de procesos de limpieza” de la FDA, propone este método y considera que, cualquier agente activo de un producto puede aparecer en el siguiente producto en un máximo de 10 ppm. Se trata de un límite socorrido que puede utilizarse cuando aún no se ha establecido otros criterios más adecuados para controlar el residuo en estudio. (3)

El valor de 10 ppm considerado un límite por defecto, es también en cierto sentido un máximo aceptable de límite del residuo en caso de que el LAR calculado basado en la dosis, sea superior a 10 ppm (0,001 de la dosis mínima del principio activo A, en la dosis máxima del próximo producto B). (36)

4. Método de la limpieza visual u organoléptica

Este método considera que ninguna cantidad de residuo debe ser visible en el equipo luego de haber realizado el procedimiento de limpieza, es la primera inspección antes de realizar los muestreos correspondientes para la validación del procedimiento. El límite visual de residuo o VRL (Visual Residue Limit), depende de varios factores como el material de construcción del equipo, el compuesto si está en solución o suspensión, concentración de residuo, color de la muestra, etc. Los estudios realizados por Richard J. Forsyth y Vincent van Nostrand son los más aplicados para la determinación de este método, en los trabajos realizados por estos investigadores se calcula los VRL y LAR (límite de aceptación de residuo) los mismos que se comparan y si el valor de $VRL > LAR$, entonces se tendrá que analizar químicamente el equipo y el LAR no será aplicable. Por lo contrario, si $VRL < LAR$ entonces es aplicable el método de VRL bajo parámetros estrictos como intensidad de luz, ángulo y distancia de visión, para lo cual es necesario tener personal altamente capacitado que pueda detectar concentraciones pequeñas de muestra, así como distinguir distintos tipos de API bajo

condiciones de estrés (luz y ángulos de visión). Según los trabajos realizados por Forsyth, el límite de detección organoléptica es de aproximadamente de 4 a 20 µg/cm² con una intensidad de luz de 100 a 1400 lux (400 lux lo más apropiado), un ángulo de visión de 15 a 90° y una distancia de 5 a 20 pies (1.524-6.096m). (36)

5. Contaminación microbiológica

La determinación de los parámetros microbiológicos no es definitiva, debido a que no hay ninguna guía en la actualidad que determine los límites de contaminación microbiológica en los equipos de uso farmacéutico. Para establecer un límite se debe tomar en cuenta la vía de administración del producto farmacéutico y la naturaleza o tipo de microorganismo contaminante. Por ello, los límites de aceptación se basan de acuerdo los propuestos por la farmacopea americana y/o europea, para superficies. Los límites establecidos para la limpieza microbiológica se basan en las recomendaciones de limpieza dadas por la Comunidad Europea para superficies en ambientes limpios tomando muestra con hisopo estéril. (36)

Esta clasificación (tabla N°8), considera a las superficies de acuerdo a su clasificación ambiental. En el caso de la validación de limpieza aplica a los equipos ubicados en los ambientes clasificados, en la tabla N°8 se muestra esta clasificación:

Tabla N°8 Clasificación microbiológica para salas limpias

CLASIFICACIÓN DEL ÁREA	LÍMITES DE ACEPTACIÓN	
	Bacterias, hongos y levaduras	Microorganismos Patógenos
Clase 100	<1 UFC	Ausentes
Clase 1 000	5 UFC	
Clase 10 000	25 UFC	
Clase 100 000	50 UFC	

Clasificación microbiológica para salas limpias (27)

2.15. MUESTREO PARA LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

Para determinar un método adecuado en la obtención de la muestra, se debe considerar las características de superficie a muestrear, del área a muestrear y del porcentaje de recuperación a obtener. Existen tres métodos de muestreo

empleados para la validación de limpieza, aunque la FDA en la guía de validaciones de limpieza indica solo dos (método del swab o hisopo y agua de aclaramiento). (3)

2.14.1. Método del hisopo

El método del hisopo consiste en delimitar una superficie con un delimitador usualmente con una plancha de acero inoxidable u otro material (23). Este método utiliza hisopos saturados con una solución diluyente los mismos que se frota sobre un área de superficie a analizar y brinda múltiples ventajas entre ellas: (4)

- Fácil acceso y económico.
- Disuelve y remueve físicamente la muestra a obtener.
- Accesible a áreas fáciles y difíciles de limpiar (según las características de la superficie), permitiendo así la cuantificación de una superficie determinada.
- Permite la recuperación de la muestra de manera directa además de los excipientes, residuos, microorganismos y agentes de limpieza.
- Método muy aceptado por las autoridades sanitarias.

Entre las desventajas se tiene:

- Uso limitado en áreas de difícil acceso como tuberías y válvulas.
- Puede ser una fuente de contaminación si no se utilizan los materiales adecuados.
- El método puede ser variable de un operador a otro si no se realiza adecuadamente.

El procedimiento de muestreo con hisopo, quizá sea la parte más crítica en la toma de muestra para la validación de limpieza por distintos motivos, debido a que el proceso por lo general se realiza por medios manuales, de modo que tiende a ser variable entre uno y otro operador y el movimiento físico del hisopo debe estandarizarse para asegurar la repetitividad del

método (número de movimientos) asimismo el tiempo empleado en el ensayo. Uno de los puntos a tomar en cuenta al seleccionar el método del hisopado es tomar en consideración la solubilidad y naturaleza del contaminante, tipo de superficie a muestrear y la técnica analítica. El MINSA a través de la DIGEMID recomienda realizar el hisopado en tres direcciones: (4)

- Horizontal, 10 veces.
- Vertical, 10 veces.
- Diagonal, 20 veces.

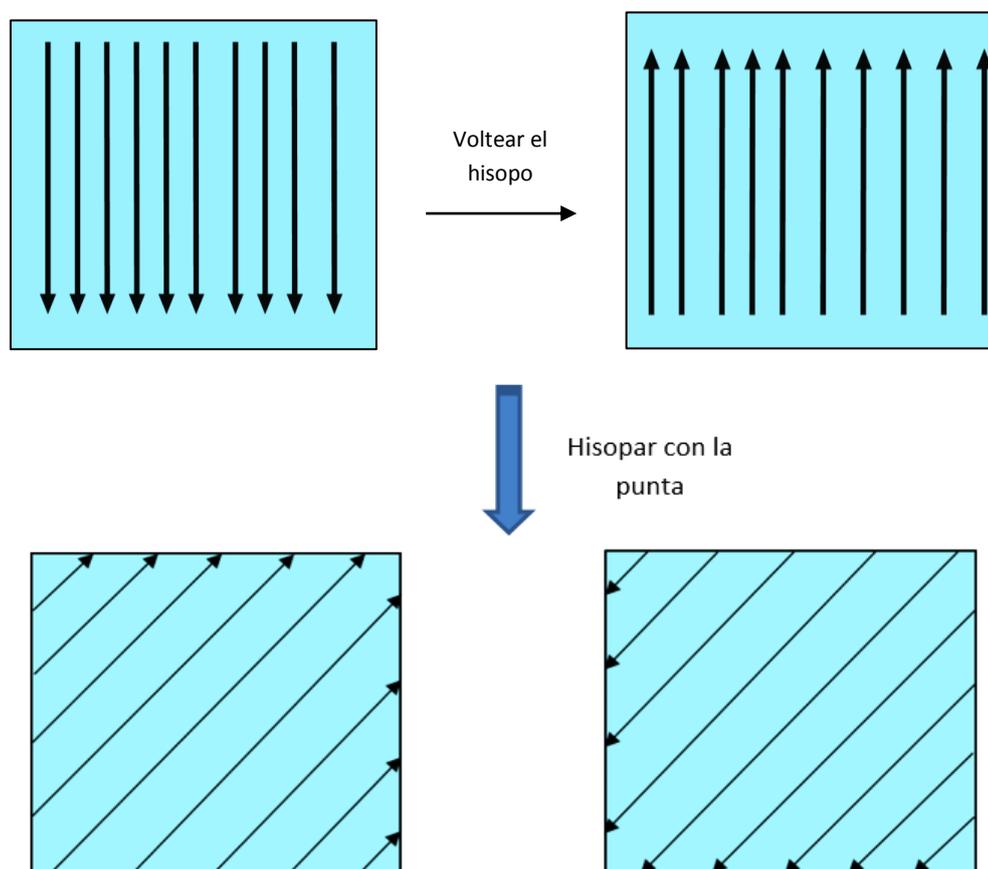


Figura N° 8 Movimientos a realizar con el hisopo para toma de muestra (4)

2.14.2. Método del agua de enjuague o de aclaramiento

Consiste en pasar un volumen conocido de solución de enjuague sobre toda la superficie del equipo. Permite muestrear superficies grandes y se puede tomar muestras de los sistemas inaccesibles o que no se pueden desmontar en su totalidad de manera rutinaria (tuberías), aplicable para

distintos IFAs, detergentes y excipientes. Las desventajas que presenta esta técnica es que no permite evaluar residuos insolubles en el medio de disolución (agua), los residuos no puedan estar distribuidos de manera homogénea. (3)

2.14.3. Método del placebo

Se utiliza para detectar los residuos que quedan en el equipo durante el proceso mediante la elaboración de un lote de placebo posteriormente al proceso de limpieza. En este lote de placebo se investiga si hay residuos de productos previos (principio activo, excipientes). Se utiliza para demostrar la no presencia de residuos en el producto siguiente. Las ventajas que ofrece esta técnica es que entra en contacto directo con las superficies y puede alcanzar puntos que son de difícil acceso para poder realizar la limpieza. Las desventajas que presenta esta técnica es que no es de elección para realizar los estudios de validación de limpieza y por lo cual no es tomado en consideración por la FDA, debido a que los residuos pueden no estar distribuidos de manera homogénea, de esta manera alterar los estudios de recuperación del contaminante, también esta técnica implica un realizar un proceso largo y costoso. (3)

2.16. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICOS

2.15.1. Cromatografía líquida de alta resolución

Denominada también cromatografía de líquidos, cromatografía líquida de alta presión, es una técnica de separación de componentes de una muestra, que se distribuyen en dos fases: una sólida (fase estacionaria) y otra líquida (fase móvil). Estas separaciones se logran por procesos de partición, adsorción o intercambio iónico. (34)

Es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla en la que estos componentes son arrastrados a través de la fase móvil sobre la fase estacionaria (columna) de acuerdo a las interacciones no covalentes que se dan entre el analito y la fase estacionaria. Esta técnica de separación es ampliamente utilizada en la actualidad debido a su sensibilidad y su especificidad, se caracteriza por poseer un sistema de bombeo que genere altas presiones, producir un flujo libre de pulsaciones y

estar dotado de componentes resistentes a la corrosión. Posen un sistema de inyección que hace posible la introducción de la muestra en volúmenes requeridos de forma exacta. Presenta también un detector capaz de percibir la presencia de un compuesto y enviar la señal eléctrica a un ordenador de registro. Se distinguen dos tipos de detectores, uno que se basa en el índice de refracción, la constante dieléctrica y la densidad de los analitos y otro basado en la absorbancia, la fluorescencia y espectroscopia de masas, caracterizados por su alta sensibilidad incluso a concentraciones mínimas. La separación cromatográfica se da en la columna (fase estacionaria, un elemento importante de este sistema, está contenida en un tubo con terminaciones, aislada por ambos lados capaz de contener la presión generada en su interior durante su fabricación y su uso. Deben ser adecuadas para la entrada y salida de la muestra, sin fugas, con el mínimo de volumen inyectado y el lavado de estas columnas dependerá de los solventes con los que son compatibles. (37)

Debido a la alta sensibilidad de los cromatógrafos líquidos, esta técnica permite la identificación y cuantificación de principios activos desde concentraciones elevadas hasta determinación de trazas (34), por ello para la validación de los procesos de limpieza en los equipos de fabricación de líquidos orales, la cromatografía líquida es la técnica más idónea para la obtención de resultados exactos y certeros.

2.17. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

2.17.1. Crecimiento microbiano

Es el aumento de constituyentes celulares mediante mecanismos de fisión binaria o gemación, para ello requiere de nutrientes que aumenta su masa y seguidamente se duplica dividiéndose en dos bacterias hijas, y cada una de estas repetirá el ciclo y se originará 4 bacterias, aumentándose su población en progresión geométrica. (38)

Los medios de cultivo son soluciones que poseen nutrientes que recuperan, multiplican, aíslan e identifican microorganismos bajo condiciones favorables de temperatura y pH. En medios líquidos el crecimiento bacteriano se visualiza como turbidez, formación de sedimento o película en

los cultivos, sin embargo, en medios solidos (agares) se visualiza formación de colonias microscópicamente visibles con distintas características respecto a su tamaño, forma, color, consistencia, que ayudan en la identificación del microorganismo. (38)

En la validación de procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales, las muestras se obtienen por el método del hisopado de superficies, las mismas que se siembran en medios solidos como Agar Tripticasa Soya (TSA) y Agar Sabouraud (ASAB) para bacterias y hongos respectivamente.

a. Agar Tripticasa soya (TSA)

Medio que favorece el crecimiento de microorganismos aerobios exigentes y no exigentes (Gram positivos y Gram negativos) además de hongos y levaduras. En su composición presenta digerido pancreático de caseína y digerido papaico de soya que aportan nitrógeno orgánico, aminoácidos y péptidos de cadena larga para el crecimiento, cloruro sódico para mantener el equilibrio osmótico y agar como agente gelificante. (39)

b. Agar Sabouraud (ASAB)

Medio de cultivo para aislamiento y desarrollo de hongos, está compuesta por nutrientes como peptona como fuente de compuestos nitrogenados, tripteína y glucosa como fuente de energía para el crecimiento de microorganismos, este último al ser un componente que se encuentra en altas concentraciones es una ventaja para el crecimiento de hongos, mientras que las bacterias no toleran altas concentraciones de azúcar. Además, que el pH bajo contribuye a los hongos mas no a muchas bacterias. (40)

Para la medición del crecimiento microbiano se emplean muchas técnicas que estimen el número de bacterias totales o viables sin embargo en esta validación de procesos de limpieza se aplicara la técnica del recuento de microorganismos viables en placa, se basa en la formación de una colonia a partir de una célula viable, expresándose como unidades formadoras de colonias. (38).

2.18. SISTEMA DE GESTIÓN DE RIESGOS EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Un sistema de gestión de riesgos de calidad, es un proceso sistemático para la evaluación, control, comunicación y revisión de riesgos para asegurar la calidad del medicamento a lo largo de su ciclo de vida. (44)

2.18.1. Análisis de riesgos en la industria farmacéutica

Según las nuevas exigencias de la FDA y la Unión europea, *“la calidad del producto farmacéutico debe ser integro durante todo el ciclo de vida”*, es decir desde el desarrollo hasta la venta del medicamento. En la actualidad las normas de correcta fabricación (NCF), está incluida en el anexo 20 de la ICH Q9. (6, 44); por lo tanto, el análisis de riesgo es una técnica de calidad muy útil y coherente para aplicar en la validación de limpieza ya que ayuda a organizar y planificar de manera racional. Las etapas de la metodología general del análisis de riesgo son (ver anexo 15): (6)

1. División del proceso en operaciones (desglose de actividades).
2. Definición de criterios de análisis y evaluación.
3. Definición de riesgos por operación (Risk identification).
4. Asignación de valores a cada riesgo (Risk analysis evaluation).
5. Implementar las acciones para reducir la gravedad y/o probabilidad de que se produzca un daño (Risk control).
6. Transmisión de la información referente al riesgo entre las personas que gestionan el riesgo y las que pueden verse afectadas por el daño producido (Risk communication).
7. Actualización del análisis de riesgo (Risk review).

2.18.2. Herramientas de calidad para el análisis de riesgo

La gestión de riesgos de calidad respalda un enfoque científico y práctico para la toma de decisiones. Algunas de las herramientas de análisis de riesgo más utilizadas en la industria farmacéutica son: modo de fallo y análisis de efectos o FMEA, clasificación y filtrado de riesgo o RRF, análisis

de peligros y puntos críticos de control o HACCP, entre otras que se muestran en el anexo 1 y capítulo 8 de las ICH Q9. (44)

1. Risk ranking and filtering (RRF)

Es una herramienta para clasificar riesgos, los sistemas complejos requieren la evaluación de múltiples factores cuantitativos y cualitativos para cada riesgo. Esta herramienta implica dividir una pregunta básica de riesgo en tantos componentes como sea posible para hallar los factores involucrados en el riesgo; estos factores se combinan en una única puntuación de riesgo relativo que luego se puede utilizar para clasificar el riesgo. (44) Las fases del RRF son: (6)

- a. Definir el sistema (proceso/etapa).
- b. Identificación del riesgo y establecimiento de factores de riesgo (división de componentes).
- c. Ponderación del riesgo.
- d. Clasificación de riesgos (Rank).
- e. Ordenar según la puntuación (Filter).

El valor asignado a cada riesgo dependerá mucho del autor. En el presente caso será:

- i. Factor de riesgo (criticidad)

FACTOR DE RIESGO	PONDERACIÓN
Muy crítico	4
Moderadamente crítico	3
Poco crítico	2

- ii. Grado de riesgo (severidad asociada a cada factor de riesgo)

FACTOR DE RIESGO	PONDERACIÓN
Muy severo	1.00
Moderadamente severo	0.75
Poco severo	0.50
Muy poco severo	0.25

2. Failure mode effects analysis (FMEA)

FMEA o análisis de modos y efectos de falla (AMEF), es un sistema de actividades que permite reconocer y evaluar fallas potenciales y sus efectos, identifica acciones que reduzcan o eliminen las probabilidades de falla; es un procedimiento disciplinado para identificar las formas en que un producto o proceso puede fallar, con el fin de prevenir dichas fallas. El modo de falla es la forma en que un producto o proceso puede fallar para cumplir con las especificaciones, y el efecto es el impacto en el cliente cuando el modo de fallo no se previene. (44) Se distinguen dos tipos de AMEF: (6)

- a. **AMEF de diseño:** Analiza componentes de diseños, enfocado a la funcionalidad del componente, causado por el diseño.
- b. **AMEF de proceso:** Analiza procesos de manufactura y ensamble, está enfocado en la incapacidad para producir un requerimiento, en un defecto.

Para aplicar este método, el proceso se divide en partes independientes, luego se analiza cada uno frente a tres parámetros que son: **Severidad o gravedad, Detectabilidad y Probabilidad**. La valoración de los parámetros se nombra a continuación: (6)

- **Valoración de severidad:** Alto, *cuando el resultado de no actuar a tiempo, daría un producto que no cumple con las especificaciones*; medio, *puede presentar algún efecto sobre la calidad del producto* y bajo, *no afecta la calidad del producto*.
- **Valoración de probabilidad:** Alto, *muy probable que suceda*; medio, *puede suceder en situaciones normales* y bajo, *muy improbable que suceda*.
- **Valoración de dificultad de detección:** Alto, *cuando ocurre el problema, no se puede identificar*; medio, *cuando ocurre el problema, puede identificarse* y bajo, *cuando sucede el problema, se detecta con facilidad*. (6)

Las fases del análisis de modos y efectos d falla son:

- a. Identificación del fallo (¿que podría fallar?).
- b. Listar los efectos del posible fallo.
- c. Puntuar la criticidad de los efectos (tabla de severidad).
- d. Asignar una severidad a los efectos del posible fallo.
- e. Establecer posibles causas del fallo (identificar las causas para cada fallo, no para efecto).
- f. Asignar una frecuencia del posible fallo (tabla de probabilidades).
- g. Identificar los controles de detección y prevención presentes (asegurar que los controles detecten las causas o fallos).
- h. Asignar un valor de detección de los controles.
- i. Calcular el NPR o RPN (Risk priority number), multiplicando los factores de probabilidad, detectabilidad y severidad.
- j. Resultados y toma de acciones.

Esta técnica de análisis, se debe implementar al diseñar sistemas, productos y procesos nuevos, al cambiar los diseños o procesos existentes que serán usados en aplicaciones nuevas, así como también después de completar la solución de problemas para evitar la incidencia.

CAPÍTULO III

3. METODOLOGÍA

3.1. MATERIALES, INSTRUMENTOS, EQUIPOS Y REACTIVOS

3.1.1. Materiales de muestreo

- Hisopos.
- Tubos de ensayo.
- Gradilla.
- Frascos estériles.
- Agua purificada.
- Láminas de aluminio.

3.1.2. Muestras de análisis

- Estándar secundario de principio activo seleccionado como “peor caso”.
- Medio de solución de hisopos.
- Agua de enjuague.

3.1.3. Materiales del sistema cromatográfico

- Columna cromatográfica Luna 5µm 100A 150mm x 4.6m C18.
- Espátulas.
- Filtros de jeringa 0.22 µm.
- Matraz volumétrico 1mL, 10 mL, 25 mL, 50mL, 100 mL y 1000 mL.
- Frascos de fase móvil 500 mL.
- Jeringas descartables de 10 mL.
- Matraz de kitasato de 1000 mL
- Membranas Polivinildenedifloride (PVDF) Hidrofílica de 0.45 µm.
- Varilla de vidrio.
- Pipetas graduadas 1mL, 10 mL, 25 mL.
- Pipetas volumétricas 1mL, 10 mL, 25 mL.
- Probetas 100 mL, 250 mL.
- Vasos de precipitación.
- Viales para HPLC.

3.1.4. Instrumentos y equipos de análisis

- Balanza Analítica METLER TOLEDO AB204-S
- Equipo de ultrasonido BRANSON.
- Bomba al vacío.
- Cromatógrafo líquido de alta resolución (HPLC) marca KNAUER.
- Conductímetro WTW Cond 330

- Potenciómetro Thermo electron Orion 3 Star

3.1.5. Reactivos

- Metanol HPLC.
- Acetonitrilo HPLC.
- Hexilamina.
- Agua purificada.
- Fosfato monobásico de potasio (KH_2PO_4).

3.2. METODOLOGÍA

3.2.1. Diseño metodológico

a. Tipo de estudio

- **Descriptivo:** Porque es analítico y correlativo, describe los parámetros a tomar. (41)

- **No experimental:** Porque no se va a manipular las variables independientes. (41)

b. Ámbito de estudio

El estudio se lleva a cabo en la sección líquidos de un laboratorio farmacéutico, ubicado en el distrito de ATE, ciudad de Lima.

3.2.2. Diseño de la investigación

- **Descriptivo:** Mide los parámetros para analizar las relaciones entre ellos y si cumplen con especificaciones dadas. (41)

- **Transversal:** El estudio se realiza en un tiempo determinado. (41)

3.2.3. Variables

a. Validación de procesos de limpieza en equipos (seleccionado como el peor caso) de fabricación de líquidos orales.

- ✓ **Definición conceptual:** Es una evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza aprobado para las áreas y equipos usados en la fabricación de medicamentos reduce a niveles aceptables los residuos contaminantes (agentes de proceso o de limpieza). (4)
- ✓ **Definición operacional:** Es una prueba o demostración de que cada etapa de la limpieza realizada a los equipos o áreas, cumple con los criterios de aceptación propuestos para eliminar en su mayoría los contaminantes, para asegurar la integridad del producto farmacéutico. (1)
- ✓ **Indicadores**

1. Determinación de trazas de principio activo (peor caso).

- **Definición conceptual:** Es la cuantificación de pequeñas cantidades de principio activo a través de un método analítico sensible a mínimas concentraciones.
 - **Naturaleza:** Cuantitativo.
 - **Forma de medición:** Directa.
 - **Escala de medición:** Razón.
 - **Procedimiento de medición:** análisis fisicoquímico.
 - **Instrumento de medición:** HPLC (Cromatografía de alta resolución).
 - **Expresión final de la variable:** ppm (partes por millón).

2. Determinación del Potencial de hidrogeniones (pH)

- **Definición conceptual:** Es la medida de la acidez y de la alcalinidad de una solución o sustancia, es decir es la medida de la concentración de Hidrogeniones (H⁺) presentes en la solución o sustancia. (34)

- **Naturaleza:** Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Procedimiento de medición:** análisis fisicoquímico.
- **Instrumento de medición:** Potenciómetro.
- **Expresión final de la variable:** pH.

3. Determinación de la Conductividad

- **Definición conceptual:** Es una medida del flujo de electrones facilitado con iones generados por la disociación del agua respecto al pH y la temperatura produciendo una conductividad fácil de predecir. (34)
- **Naturaleza:** Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Directa.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico.
- **Instrumento de medición:** Conductímetro.
- **Expresión final de la variable:** $\mu\text{S}/\text{cm}$.

b. Validación del método analítico para determinar trazas de principio activo (peor caso).

- ✓ **Definición conceptual:** Es un proceso documentado para demostrar que un procedimiento analítico es adecuado para los fines previstos. (1)
- ✓ **Definición operacional:** Proceso por el cual se establece, mediante estudios de laboratorio que las características de desempeño del método cumplen con los requisitos para las aplicaciones analíticas a las que está destinada. (42)
- ✓ **Indicadores**

1. Linealidad de sistema

- **Definición conceptual:** Capacidad de un procedimiento analítico para obtener, dentro de un intervalo determinado, resultados directamente proporcionales o que requieran de transformación matemática. (34)
- **Naturaleza:** Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Intervalo.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico y estadístico.
- **Instrumento de medición:** Cromatografía de alta resolución (HPLC).
- **Expresión final de la variable:** Lineal.

2. Selectividad

- **Definición conceptual:** Es la capacidad de evaluar en forma inequívoca al analito en presencia de los componentes que lo acompañen: impurezas, productos de degradación o componentes de la matriz. (34)
- **Naturaleza:** Cualitativo.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico y estadístico.
- **Instrumento de medición:** Cromatografía de alta resolución (HPLC).
- **Expresión final de la variable:** Selectivo.

3. Precisión

- **Definición conceptual:** Es el grado de coincidencia entre los resultados generados de las muestras individuales a partir de una muestra homogénea. (34)
- **Naturaleza:** Cuantitativo.

- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico y estadístico.
- **Instrumento de medición:** Cromatografía de alta resolución (HPLC).
- **Expresión final de la variable:** Preciso.

4. Exactitud

- **Definición conceptual:** Es el porcentaje del analito recuperado, refleja la proximidad entre el valor real y el valor medido. (34)
- **Naturaleza:** Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Nominal.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico y estadístico.
- **Instrumento de medición:** Cromatografía de alta resolución (HPLC).
- **Expresión final de la variable:** Porcentaje (%)

5. Límite de detección

- **Definición conceptual:** Es la concentración más baja que se puede detectar con una exactitud y precisión aceptable. (4)
- **Naturaleza:** Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico.
- **Instrumento de medición:** Cromatografía de alta resolución (HPLC).
- **Expresión final de la variable:** ppm.

6. Límite de cuantificación

Definición conceptual: Es la menor cantidad de analito que puede cuantificarse en una muestra, con precisión y exactitud. (4)

- **Naturaleza:** Cuantitativo.
- **Forma de medición:** Indirecta.
- **Escala de medición:** Razón.
- **Procedimiento de medición:** Análisis fisicoquímico.
- **Instrumento de medición:** Cromatografía de alta resolución (HPLC).
- **Expresión final de la variable:** Partes por millón (ppm).

3.2.4. Muestra

- Las muestras fueron tomadas del agua de último enjuague pasada por el equipo de fabricación (determinado como el peor caso) para medir la conductividad, pH y sustancias oxidables.
- Se realizó hisopados a los puntos críticos del equipo de fabricación determinado como el peor caso para determinación cuantitativa de trazas de principio activo y análisis microbiológico.
- Se tomó muestras de tres lotes consecutivos.

a) Criterio de inclusión de la muestra

- Trazas de principio activo.

b) Criterios de exclusión de la muestra

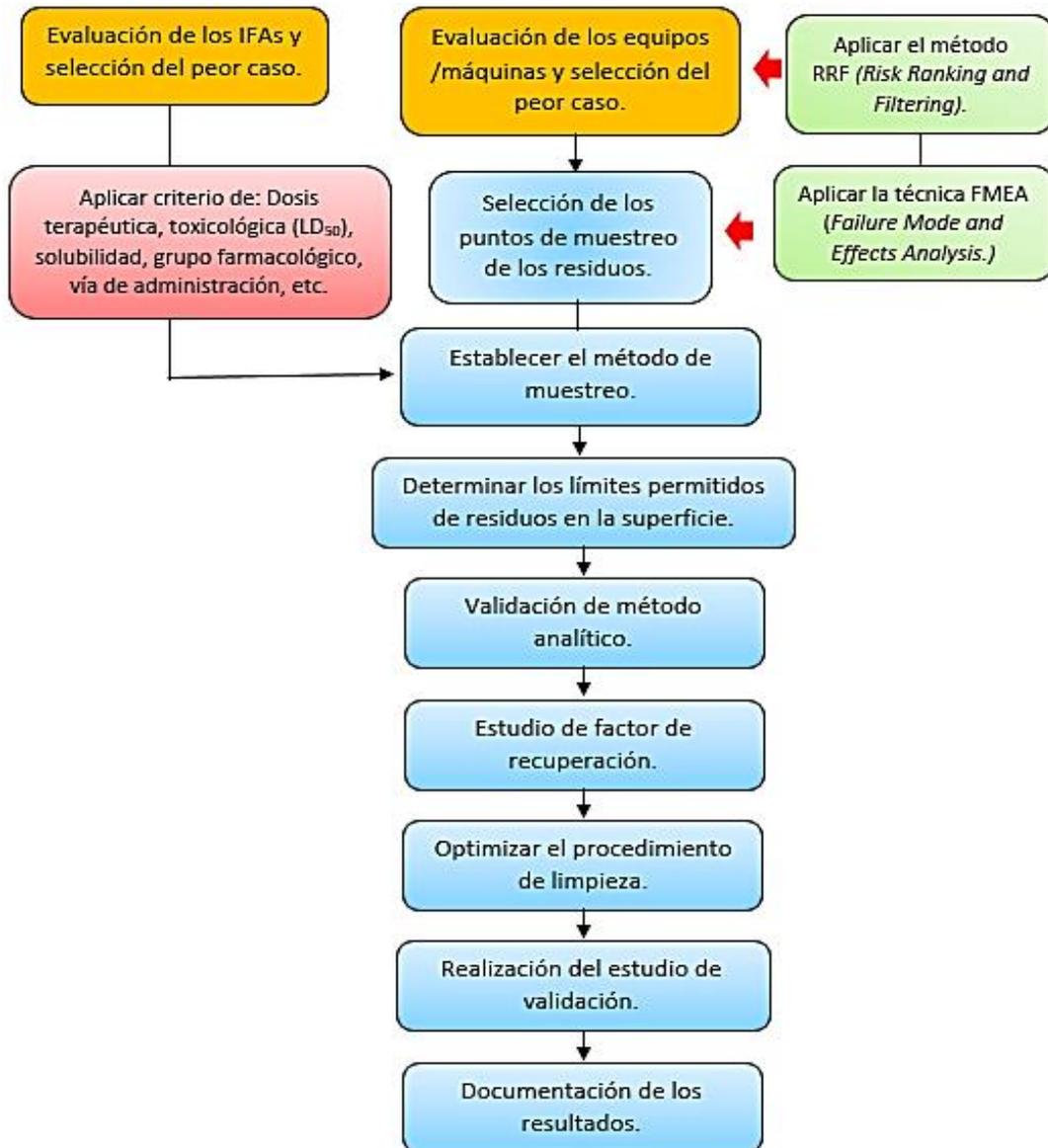
- Impurezas que no se identifican como principio activo.

3.3. PROCEDIMIENTO

La Recopilación de datos sobre la frecuencia de uso de los APIs y equipos o máquinas se realizó de manera retrospectiva con el apoyo de la documentación aplicada a cada uno de los casos. La revisión se hizo de los dos últimos 2 años de producción.

A continuación, se muestra un flujograma de las etapas que requirió la validación de procesos de limpieza:

Figura N° 9 Flujograma del proceso de validación de limpieza



Fuente: Propio de los investigadores

1. ELABORACIÓN DEL PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA DE EQUIPOS UTILIZADOS EN EL ÁREA DE LÍQUIDOS ORALES EN UNA PLANTA FARMACÉUTICA.

Se realizó el protocolo de validación en el que figuran los objetivos de la validación, responsables, descripción de los procesos de limpieza, métodos

de análisis, materiales, equipos, reactivos y fórmulas para determinar los criterios de aceptación fisicoquímica del contaminante en base a referencia bibliográfica. Se aprecia en el anexo N°1.

2. EVALUACIÓN DEL “PEOR CASO” PARA LOS PRINCIPIOS ACTIVOS UTILIZADOS EN EL ÁREA DE FABRICACIÓN DE LÍQUIDOS ORALES EN BASE A LA TOXICIDAD, SOLUBILIDAD Y 10 PPM Y FIJAR LOS LÍMITES DE ACEPTACIÓN.

Para establecer el peor caso respecto al principio activo, se hizo estudios a cada uno de los activos utilizados en la planta de producción hasta la actualidad de acuerdo a las siguientes características: (ver tablas N°9, 10, 11 y 12):

- Fisicoquímicas (solubilidad alta, media y baja).
- Toxicológicas.
- Dosis terapéutica diaria mínima, máxima.
- Grupo farmacológico.
- Vía de administración

Tabla N°9: Valoración de la solubilidad, según USP 40

Valoración	Descripción		Cantidad aproximada de solvente por 1 parte de soluto (en peso)
1	MS	Muy Soluble	Menor que 1 parte
	FS	Fácilmente soluble	de 1 a 10 partes
2	S	Soluble	de 10 a 30 partes
	MdS	Moderadamente Soluble	de 30 a 100 partes
3	PS	Poco soluble	de 100 a 1 000 partes
4	MPS	Muy poco soluble	de 1 000 a 10 000 partes
5	PlnS	Prácticamente Insoluble	Más de 10 000 partes
	InS	Insoluble	N.A.

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos, edición 40 (34)

La solubilidad de los p.a. es una de las características más importantes. La farmacopea americana otorga valores en función a la cantidad de soluto capaz de disolverse en una cantidad de solvente (agua). Este mismo

principio nos facilita conocer el grado de limpieza de una superficie luego de realizar la limpieza respectiva. Los valores son establecidos ante una necesidad de cuantificar la solubilidad y estas van de 1 a 5, siendo el criterio 1 para sustancias muy solubles y 5 para sustancias menos solubles en agua.

De todos los activos recopilados se realizó una clasificación según toxicidad (*Gosselin, Smith and Hodge*) (43) que se representa en las siguientes tablas (tablas N° 11,12 y 13):

Tabla N°10: Clasificación de la toxicidad

Rangos de toxicidad	Dosis única rata LD ₅₀ (vía oral)	Valoración
Súper tóxico	≤ 5 mg/kg	6
Extremadamente tóxico	5 - 50 mg/kg	5
Muy tóxico	50 - 500 mg/kg	4
Moderadamente tóxico	0.5 - 5 g/kg	3
Ligeramente tóxico	5 - 15 g/kg	2
No tóxico	≥ 15 g/kg	1

Valoración de la toxicidad según Minsa del Perú (4)

La valoración de la toxicidad de una sustancia está en función a la DL₅₀ que produce en animales de experimentación (ratas), que van en una escala de 1 a 6, estos valores son indirectamente proporcional a la dosis administrada por vía oral, siendo el valor 1 para sustancias no tóxicas y 6 para sustancias que, con un mínimo de dosis causa la muerte. Estos datos pueden ser extrapolados para una probable DL₅₀ en humanos en función al peso corporal a partir de modelos experimentales con animales (tabla N°11).

Tabla N°11: Probable dosis tóxica en humanos

Valoración	Rangos de toxicidad	Para una persona de 70 kg
1	Prácticamente no tóxico	Más de 1 200 mL
2	Ligeramente tóxico	600 mL – 1 200mL
3	Moderadamente tóxico	30 mL- 600 mL
4	Muy tóxico	30 mL
5	Extremadamente tóxico	4 mL
6	Súper tóxico	1 grano (menos de una gota)

Fuente: Minsa del Perú (4)

La dosis terapéutica se valora en función a la concentración de p.a. que se requiere para producir un efecto farmacológico evidente. La valoración de este parámetro va en una escala de 1 a 5, los valores son indirectamente proporcional a la dosis terapéutica mínima; los mismos se representan en la siguiente tabla:

Tabla N°12: Valoración según la dosis terapéutica mínima

Valoración	Dosis terapéutica mínima
1	> 1000 mg
2	100 mg – 1000 mg
3	10 mg – 99 mg
4	1 mg – 9 mg
5	< 1 mg

Fuente: FDA (3)

Los principios activos recopilados en el estudio, serán clasificados en una tabla (tabla N°17) en donde se sumarán los valores asignados según toxicidad, solubilidad y dosis terapéutica en función a cada una de sus características (tablas N° 9,10 y 12) y donde el p.a. que posea mayor puntaje será el probable peor caso.

3. EVALUACIÓN DEL PEOR CASO PARA EQUIPOS UTILIZADOS EN LA FABRICACIÓN DE LÍQUIDOS ORALES EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA, POR EL MÉTODO DEL RISK RANKING AND FILTERING (RRF).

Para evaluar los equipos se aplicó el método RRF:

a. Método del Risk Ranking and Filtering (RRF)

Esta técnica de RRF de gestión de riesgo se aplicó para la determinar de forma precisa y priorizada los equipos que requieren una validación, tomando en cuenta una serie de factores y grado de riesgo (criticidad), (44) previamente establecidos y cuantificados según el tipo de material, grado de desmontaje del equipo, puntos de fácil o difícil acceso o puntos muertos, tipo de superficie, frecuencia de uso y facilidad de limpieza.

Se evaluó las siguientes características: (6)

Desmontaje: se determinó si el equipo es desmontable, parcialmente o no desmontable.

Frecuencia de uso: Se determinó con qué frecuencia se ha utilizado el tren de equipos o maquinas involucradas.

Facilidad de limpieza: se estudió la naturaleza de la superficie del equipo (si es lisa o rugosa).

Puntos muertos: Se determinó si el equipo presenta partes de difícil acceso para su limpieza.

Tipo de material: Se determinó con qué tipo de material está fabricado (aluminio, silicón, acero inoxidable, plástico, etc.)

Tomando en cuenta las características mencionadas se hizo una valoración de la criticidad del parámetro que se observa en la tabla N°13:

Tabla N°13: Asignación de parámetros y factor, según el riesgo

Parámetros	Grado de riesgo	Características	Factor	
Frecuencia de uso	4	Diario (5-7/semana)	1	
		Mucho (1/semana o más)	0.75	
		Regular (1/1-2 meses)	0.50	
		Poco (1-2 por año)	0.25	
Desmontaje	3	Totalmente	0.25	
		Parcialmente	0.50	
		No desmontable	0.75	
Facilidad de limpieza	2	Liso	0.25	
		Poroso (grueso)	0.75	
Puntos muertos	2	No	0	
		Si	Accesibles	0.50
			No accesibles	0.75
Tipo de material	2	Acero inoxidable	0.25	
		Acero inoxidable + otro material	0.50	
		Otro material	0.75	

Fuente: W. Rezquellah, 2015 (6)

Para calcular el RRF, se aplicó la siguiente fórmula:

$$\text{RRF} = F_U \cdot 4 + F_D \cdot 3 + F_L \cdot 2 + F_{PM} \cdot 2 + F_M \cdot 2$$

Fuente: W. Rezquellah, 2015 (6)

Donde:

F_D : Factor de desmontaje.

F_U : Factor de frecuencia de utilización.

F_L : Factor de limpieza.

F_{PM} : Factor de puntos de acceso o muertos

F_M : Factor del tipo de material del equipo.

El resultado obtenido de la ecuación citada menciona que, cuanto mayor sea el valor obtenido, mayor será el riesgo de un posible fallo, de ese modo nos facilita filtrar y clasificar el riesgo.

4. IDENTIFICACIÓN DE LOS PUNTOS CRÍTICOS DEL EQUIPO SELECCIONADO COMO EL PEOR CASO, PARA LA TOMA DE MUESTRA MEDIANTE EL MODO DE FALLO Y ANÁLISIS DE EFECTOS (FAILURE MODE AND EFFECTS ANALYSIS).

Para la selección de los puntos de muestreo en el equipo, se aplicó la técnica de Modo de Fallo y Análisis de Efectos o FMEA (*Failure Mode and Effects Analysis*), previa evaluación de RRF, por ello la importancia de la determinación de los puntos críticos, los cuales fueron los puntos a muestrear y estos deben constar en el Procedimiento de Trabajo Normalizado (PNT) del equipo. (44)

El Número de Prioridad de Riesgo o RPN por sus siglas en inglés, será el producto de multiplicar la SEVERIDAD, OCURRENCIA y DETECCIÓN como indica la siguiente ecuación:

$$\text{RPN} = \text{Severidad} \times \text{Ocurrencia} \times \text{Detección}$$

Los RPN superiores a 100 serán considerados los más críticos.

Toma de muestra o muestreo

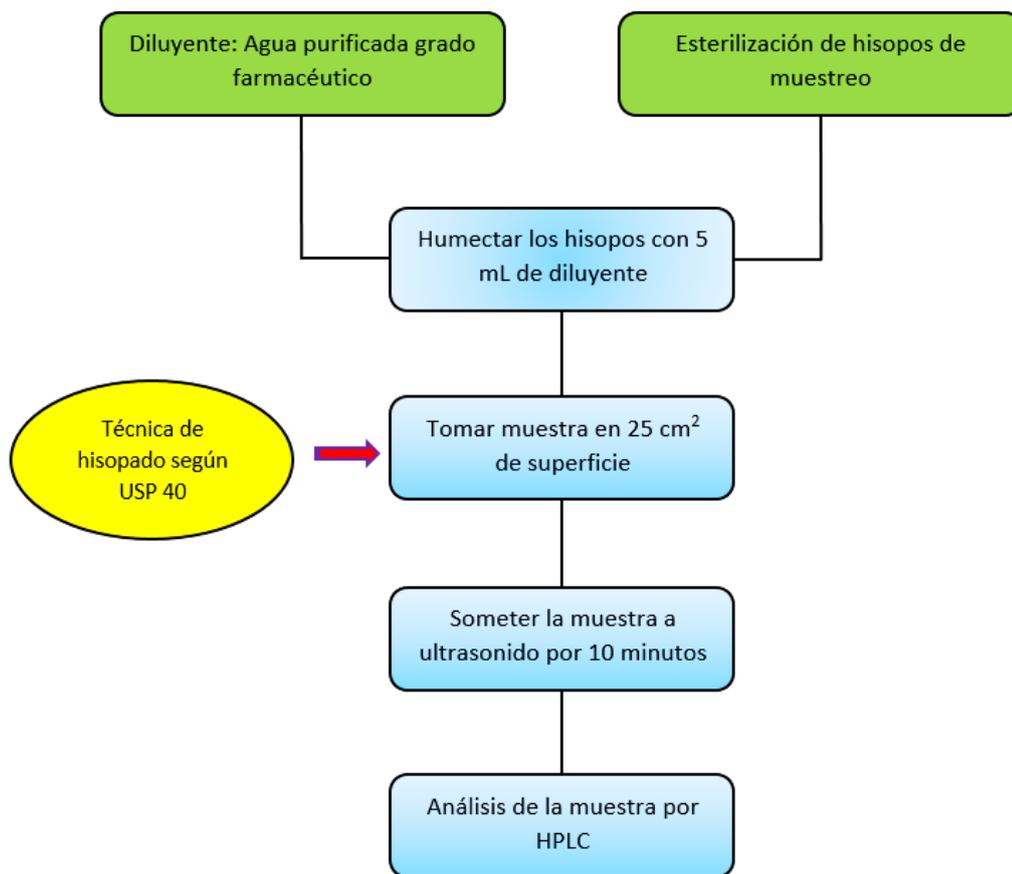
En la guía de la FDA “Guía de Inspecciones de Validación de Procesos de Limpieza”, determina realizar el muestreo de superficies de dos maneras: muestreo directo en la superficie y el uso de soluciones de enjuague.

La toma de muestra se hizo por el método de hisopado, sobre la superficie del equipo, dada las facilidades que ofrece, para ello se seleccionó varios puntos de muestreo incluyendo los de difícil acceso y acceso normal. El hisopado se realizó utilizando una plantilla cuadrada de aluminio de medidas de 5x5 de lado, por lo cual se muestrea un total de 25 cm², a excepción de los puntos críticos en el cual la plantilla de aluminio no es adaptable, en este caso se hizo un hisopado de la superficie completa.

Los hisopos empleados para la cuantificación de trazas, se impregnaron en 5 mL de agua purificada (dada la solubilidad del IFA). A continuación, se detalla el procedimiento:

1. Se humectó el hisopo en 5 mL de agua purificada y se escurrió en la superficie del tubo de ensayo.
2. Se procedió a restregar el hisopo en 25 cm² de un lado en dirección horizontal y con el otro lado en dirección vertical y con la punta en forma diagonal.
3. Se cortó la cabeza del hisopo y se conservó dentro del tubo de ensayo.
4. Se llevó al ultrasonido por un tiempo de 10 minutos.
5. Se pasó a los viales del cromatógrafo (HPLC) para su análisis.

Figura N°10: Flujograma de obtención de muestra de IFA



Fuente: Elaboración propia de los investigadores en base a la guía de validación de limpieza de la FDA

Así mismo se tomó muestras de agua de enjuague de 300 mL en envases, para realizar las pruebas de pH, conductividad y sustancias oxidables.

5. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO DE CROMATOGRAFÍA LÍQUIDA DE ALTA RESOLUCIÓN (HPLC) PARA CUANTIFICAR TRAZAS DE PRINCIPIO ACTIVO SELECCIONADO COMO PEOR CASO.

Para llevar a cabo la validación del método analítico, se requiere de equipos, materiales calificados y estándares comparados con estándares primarios, cuyos certificados se aprecian en el anexo N°2, 3, 4, 5 y 6. Se propuso un método analítico por HPLC para el análisis de trazas de Prednisolona sodio fosfato con un sistema cromatográfico que se describe a continuación.

a. CONDICIONES CROMATOGRÁFICAS

Tabla N°14 Condiciones cromatográficas del método analítico.

CROMATOGRAFO HPLC AZURA-DAD	
DETECTOR	DAD
LONGITUD DE ONDA	247 nm
COLUMNA	LUNA C18 150mm x 4.6mm x 4µm
VELOCIDAD DE FLUJO	1ml/1 minuto
VOLUMEN DE INYECCIÓN	100µL
TÉMPERATURA	25°C
TIEMPO DE CORRIDA	7 minutos
FASE MÓVIL	Transferir 2.33 mL de hexilamina y 4.02 g de fosfato monobásico de potasio en un beaker de 1000mL, agregar 740mL de agua y disolver mientras se va mezclando. Agregar 260ml de acetonitrilo, mezclar y filtrar a través de un filtro de membrana de 0,45µm de Nylon.
DIUYENTE	La misma fase móvil.

b. ESTANDAR DE REFERENCIA: PREDNISOLONA SODIO FOSFATO

El estándar utilizado fue un estándar secundario, es decir previamente fue comparado con un estándar primario (USP), su certificado de análisis se puede ver en el anexo N° 7.

ESTANDAR	PREDNISOLONA SODIO FOSFATO
TIPO	SECUNDARIO
LOTE	K09A20170806
POTENCIA	92,41%
VENCIMIENTO	2020-07

Fuente: certificado de análisis de prednisolona sodio fosfato (anexo7)

Preparación del estándar de referencia al 100%

Pesar 25mg de estándar y llevar a una fiola de 100mL, adicionar fase móvil, disolver, llevar hasta 100mL y homogenizar. Transferir 2 mL a una fiola de 50mL, aforarlo con fase móvil y homogenizar. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0.22µm de nylon en viales y se llevó al HPLC.

La validación del método analítico para determinación de trazas de Prednisolona Sodio Fosfato se trabajó únicamente con estándares y

diluyente, ya que las muestras que requieren de este método, no presentan placebo.

La validación del método analítico se expresó en términos de parámetros analíticos que fueron evaluados por cromatografía de alta resolución (HPLC), los que se mencionan a continuación.

Figura N°11: Flujo del proceso de validación del método analítico para determinar trazas de principio activo (peor caso)



Fuente: Elaboración propia de los investigadores en base las buenas prácticas de manufactura

El desarrollo del procedimiento de preparación de muestras para la validación del método analítico se puede apreciar en el protocolo de validación, que se puede ver en el anexo N°1.

6. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE LOS PUNTOS CRÍTICOS DETERMINADOS EN EL PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

Se realizó el análisis físicoquímico a tres lotes continuos (L1, L2 y L3) del principio activo seleccionado como peor caso contaminante para la verificación del método analítico validado. Los análisis que se hicieron son los siguientes:

- ❖ Cuantificación de trazas de principio activo (peor caso) por HPLC.
- ❖ Análisis cualitativo de residuos de detergente mediante la medición de pH y conductividad.
- ❖ Análisis de sustancias oxidables a las muestras de enjuague.
- ❖ Análisis microbiológico a los puntos de muestreo seleccionados.

A. CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS

Una vez que el equipo de fabricación seleccionado como peor caso, estuvo en su última etapa de enjuague, se tomó muestras de 300 mL del agua para análisis de conductividad, pH y sustancias oxidables, al finalizar este proceso, se procedió a tomar muestras de los siete puntos seleccionados como dificultosos para el análisis de trazas de prednisolona sodio fosfato por el método del hisopado, a continuación, se describe la preparación del estándar y el tratamiento de las muestras.

Preparación del estándar de referencia:

Pesar 25mg de estándar y llevar a una fiola de 100mL, adicionar fase móvil, disolver, llevar hasta 100mL y homogenizar. Transferir 2 mL a una fiola de 50mL, aforarlo con fase móvil y homogenizar. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0.22um de nylon en viales y se llevó al HPLC.

Preparación de muestras

Una vez tomada la muestra por el método del hisopado, se añade 5mL de fase móvil, se deja reposar por 30 minutos, someter al ultrasonido por 15 minutos, se filtrar con membranas de 0.22um de nylon en viales para su corrida en el equipo.



Fotografía 1. Delimitación de superficie a muestrear (25 cm²) e hisopado.



Fotografía 2. Conservar las muestras tomadas en la solución diluyente.



Fotografía 3. Someter las muestras al ultrasonido para dispersar la sustancia a analizar en la solución diluyente.



Fotografía 4. Preparación de las muestras para el análisis fisicoquímico en HPLC.

Con los resultados generados por el equipo se aplicó la siguiente fórmula para la cuantificación de trazas de Prednisolona sodio fosfato:

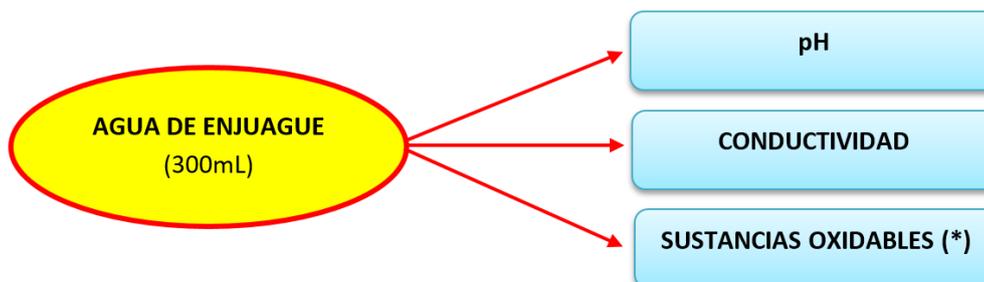
$$\text{trazas (ug/ml)} = \frac{A_{mt}}{A_{st}} \times C_{st} \times \frac{5\text{ml}}{25\text{cm}^2} \times \frac{100}{R}$$

B. ANÁLISIS CUALITATIVO DE RESIDUOS DE DETERGENTE MEDIANTE LA MEDICIÓN DE CONDUCTIVIDAD Y pH

Para ello se tomó muestras de agua purificada antes y después del último enjuague, con el objetivo de tener la referencia de un blanco.

Una vez tomada los 300 mL de agua de enjuague anteriormente mencionado, se procedió a medir la conductividad y el pH del blanco y de la muestra.

Figura N°12: Análisis fisicoquímico del agua purificada obtenido por aclaramiento



Fuente: Elaboración propia de los autores

C. ANALISIS DE SUTANCIAS OXIDABLES

(*) Tabla N°15: Técnica analítica para determinar Sustancias oxidables

Prueba	Procedimiento	Criterio de aceptación
Sustancias oxidables	A 100 mL de muestra (agua de aclaramiento) añadir 10 mL de ácido sulfúrico 2N llevar a ebullición y agregar 0,1 mL de permanganato de potasio 0,02M, hervir por 5 minutos, la solución se mantiene ligeramente rosada.	La solución se mantiene ligeramente rosada

Fuente: Farmacopea de los Estados Unidos, edición 41 (34)

D. ANALISIS MICROBIOLÓGICO

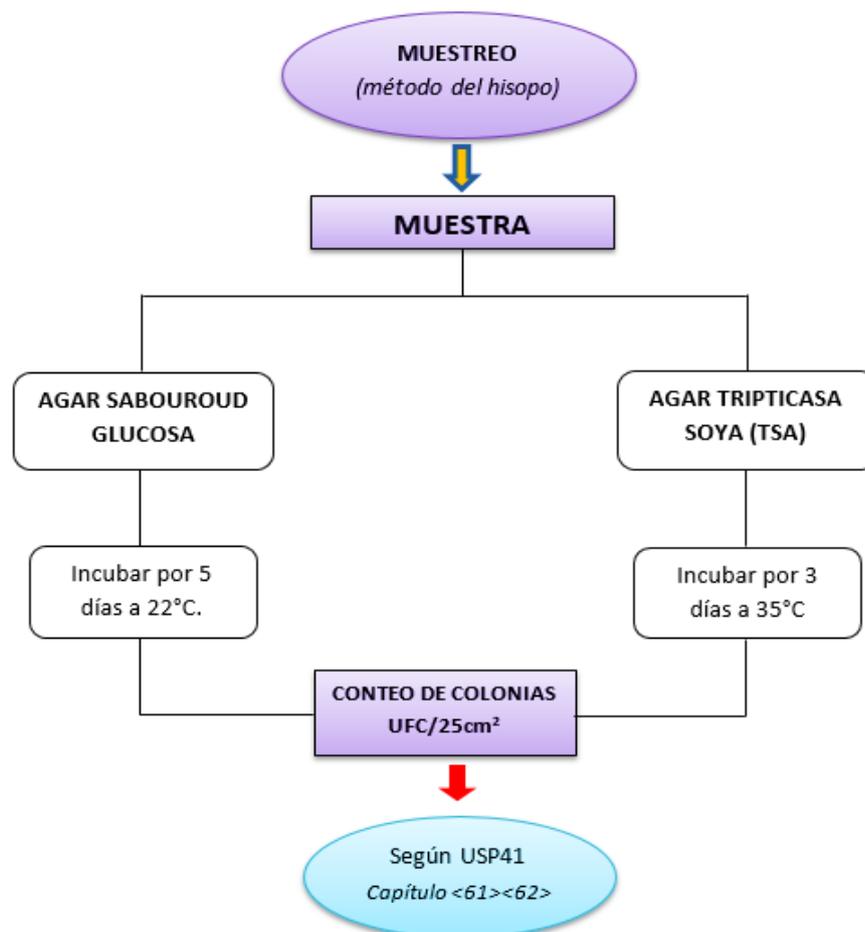
Las muestras para análisis microbiológico se tomaron de 25 cm² de superficie (lado adyacente a las tomadas para el análisis fisicoquímico), para evitar la contaminación cruzada se analizó los siete puntos críticos del equipo seleccionado como peor caso (tanque 1 de fabricación de 400L).

Una vez tomada la muestra (método del hisopo), se realizó la siembra en agar tripticosa soya para bacterias y en agar sabouraud para hongos y levaduras. Estas

placas se incubo por 3 días a temperatura de 35°C y por 5 días a 22°C respectivamente.

Trascurrido el tiempo, se procedió al conteo de unidades formadoras de colonias (UFC) si hubiese crecimiento.

Figura N°13: Flujo del análisis microbiológico de los puntos de muestreo



Fuente: Elaboración propia en base a USP 41

CAPITULO IV

4. ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

Los resultados obtenidos serán nombrados según la metodología planteada en el capítulo 3.

Según la normativa dada por la Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas (DIGEMID), sobre las buenas prácticas de manufactura publicada en 2018, indica que la limpieza y sanitización de los equipos, instrumentos y utensilios deben ser llevados a cabo en base a un procedimiento o instructivo correspondiente.

Para llevar a cabo el estudio de validación de limpieza, se revisan todos los procedimientos de manejo y limpieza de los equipos aprobados, para luego tener un solo procedimiento estandarizado el cual implica realizar un enjuague previo con agua de red (agua potable) para retirar los restos macroscópicos, aplicación de solución detergente, enjuague con agua de red, enjuague con agua blanda, desinfección con alcohol etílico al 70% y agua blanda caliente.

4.1. EVALUACIÓN DE LOS INSUMOS FARMACÉUTICOS ACTIVOS (IFA)

Para determinar el IFA como peor caso se tomó en cuenta el grupo farmacológico, solubilidad, toxicidad, vía de administración, grado de dificultad de limpieza del producto, uso del tren de equipos, frecuencia de rotación en la fabricación del producto (si hay más de un IFA con máxima puntuación) y el IFA más activo (corticoide).

4.1.1. Interacción de los IFAs con los equipos.

En la tabla N°16, se menciona los IFAs utilizados en cada uno de los equipos de la sección líquidos orales en el periodo comprendido del año 2016 y 2018. En la tabla N°17, se menciona la valoración de los IFAs en base a la solubilidad, dosis terapéutica y toxicidad, como indica la metodología mencionada en el capítulo anterior.

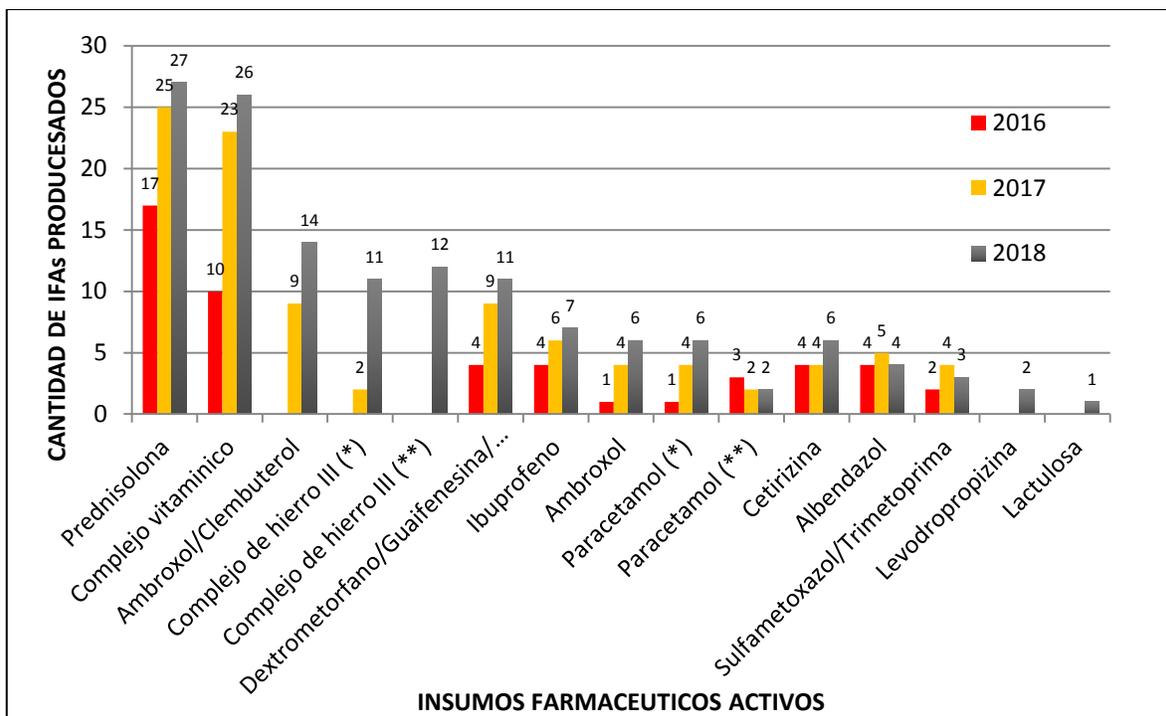
Tabla N°16: lista de equipos versus IFAs procesados en la sección líquidos orales.

CÓDIGO	MÁQUINA / EQUIPO	PREDNISOLONA	TIAMINA (B1)	RIBOFLAVINA 5 FOSFATO (B2)	NICOTINAMIDA (B3)	D-PANTENOL (B5)	PIRIDOXINA (B6)	CLEMBUTEROL CLORHIDRATO	AMBROXOL	COMPLEJO DE HIRRO III (*)	COMPLEJO DE HIRRO III (**)	FENILEFRINA	GUAIFENESINA	DEXTROMETORFANO	IBUPROFENO	PARACETAMOL (*)	PARACETAMOL (**)	CETIRIZINA	ALBENDAZOL	TRIMETOPRIMA	SULFAMETOXAZOL	LEVODROPROPIZINA	LACTULOSA
E004	AGITADOR TIPO PEDESTAL 01	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X
E005	TANQUE DE FABRICACIÓN 01 DE 400 L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	-	-	-	X	X	X	X
E006	TANQUE DE FABRICACIÓN 02 DE 400 L	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	X	X	-	X	-	X	X	X	X
E007	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 200 L	-	-	-	-	-	-	-	-	-	X	-	-	-	-	-	X	X	X	X	X	-	-
E009	FILTRO PRENSA	X	X	X	X	X	X	X	X	X	-	X	X	X	-	X	-	X	-	-	-	X	-
M010	ENVASADORA MIP-1500	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X	X

(*): Jarabe.

(**): Solución.

Grafico N°1. IFAs PROCESADOS EN LA PLANTA FARMACÉUTICA EN EL PERIODO COMPRENDIDO DEL AÑO 2016 – 2018



En el gráfico N°1, se muestran los datos obtenidos como resultado de la revisión documental de productos procesados en la planta farmacéutica en el periodo comprendido entre los años 2016 y 2018, en la cual se puede evidenciar un claro incremento de producción del producto prednisolona seguida del complejo vitamínico, los mismos que son los productos más representativos de la compañía. Asimismo, en el gráfico mencionado también se puede apreciar que el principio activo Prednisolona fue la que se procesó con mayor frecuencia, en un total de 17 lotes en el 2016, 25 lotes en el 2017 y 27 lotes en el 2018, equivalentes a 27600 L, seguida por el complejo vitamínico equivalentes a 23600L o 59 lotes de producto. Los IFAs procesadas con menor frecuencia son Albendazol, Cetirizina, entre otros.

4.1.2. Clasificación de los IFAs según la toxicidad, dosis terapéutica y solubilidad

Con el objetivo de establecer el insumo farmacéutico activo más crítico, se realiza la valoración en base a la solubilidad, toxicidad y dosis terapéutica mínima (mencionadas en las tablas N°9, 10 y 12); se selecciona el IFA representativo como el peor caso (de mayor valor), con el cual se establecerá los límites de aceptación para el proceso de validación de limpieza.

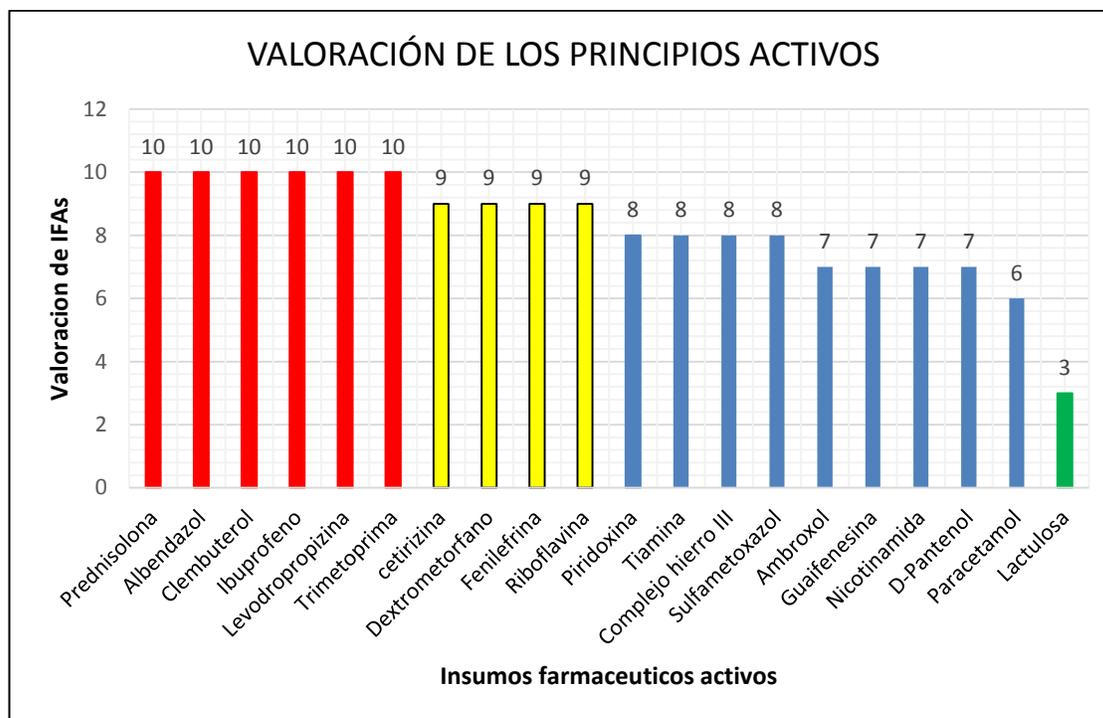
Tabla N°17, Valoración de los IFAs procesados en la planta en función a la solubilidad, toxicidad y dosis terapéutica.

Tamaño de lote (L)	Ingrediente activo	Solubilidad (S)	Valoración de solubilidad	Tóxicidad (T) oral en ratas (mg/Kg)	Valoración de toxicidad	Dosis Terapéutica. Min. Diaria(mg/día)	valoración dosis terapéutica min.	Valoración por principio activo
200	Cetirizina diclorhidrato	FS	1	365	4	5	4	9
400	Prednisolona sodio fosfato	S	2	240	4	5	4	10
400	Ambroxol Clorhidrato	S	2	13 400	2	15	3	7
400	Ambroxol Clorhidrato	S	2	13 400	2	15	3	7
	Clembuterol	FS	1	159	4	0.01	5	10
400	Dextrometorfano Bromhidrato	MdS	2	116	4	20	3	9
	Fenilefrina	FS	1	17	5	10	3	9
	Guayfenesina	S	2	1 510	3	200	2	7
400	Ibuprofeno	PlnS	5	1 600	3	100	2	10
400	Sulfametoxazol	PlnS	5	2 480	3	160	2	8
	Trimetoprima	MPS	4	100	4	800	2	10
100	Complejo hierro III polimaltosa	S	2	>2 000	3	50	3	8
400	Cetirizina diclorhidrato	FS	1	365	4	5	4	9
400	Paracetamol	FS	1	1 944	3	120	2	6
100	Paracetamol	FS	1	1 944	3	100	2	6
100	Albendazol	PlnS	5	2 400	3	200	2	10
400	Tiamina (B1)	FS	1	3 710	3	5	4	8
	Riboflavina 5 Fosfato sodico(B2)	MdS	2	>1 000	3	2.74	4	9
	Nicotinamida (B3)	FS	1	3 500	3	20	3	7
	D - Pantenol (B5)	FS	1	>10 000	2	3	4	7
	Piridoxina (B6)	FS	1	4 000	3	2	4	8
400	Levodropropizina	MPS	4	886.5	3	18	3	10
400	Lactulosa	MS	1	18 160	1	9 990	1	3

De la tabla N°17, los resultados de la valoración de los IFAs en estudio que tienen la puntuación más alta son: Prednisolona, Clembuterol clorhidrato, Ibuprofeno, Trimetoprima, Albendazol y Levodropropizina con una puntuación de 10. Como se muestra en la Tabla N° 17, esta puntuación indica que los activos

que poseen valores superiores con respecto a los demás, tienden a ser menos solubles en agua, ser más tóxicos y por ende la dosis terapéutica mínima suele ser muy baja. La gráfica N°2 muestra la representación gráfica del mismo.

Gráfica N° 2 Puntuación de los IFAs en base a la solubilidad, dosis terapéutica y toxicidad.



En la gráfica N° 2 se puede apreciar la representación gráfica de la tabla N°17, esta grafica nos muestra que la valoración numérica del IFA será directamente proporcional a la criticidad del mismo, pero algunos p.a. que poseen toxicidad alta no son considerados como el peor caso, porque existen otras características a evaluar como solubilidad, frecuencia de uso entre otras; es así que si un IFA posee una toxicidad alta como es el caso de Fenilefrina que posee una DL50 de 17mg/kg (según valoración de tabla N° 10), no sea considerado el más crítico por poseer características como la solubilidad que facilitan la eliminación de las superficies.

4.1.3. Clasificación de los IFAs según grupo farmacológico

Tabla N°18 Clasificación de los IFAs procesados en la planta farmacéutica según el grupo farmacológico.

PRINCIPIO ACTIVO	FAMÍLIA	GRUPO TERAPÉUTICO
PREDNISOLONA	Corticosteroide	Glucocorticoide
TIAMINA (B1)	Suplementos vitamínicos	Vitaminas
RIBOFLAVINA 5 FOSFATO (B2)	Suplementos vitamínicos	Vitaminas
NICOTINAMIDA (B3)	Suplementos vitamínicos	Vitaminas
D-PANTENOL (B5)	Suplementos vitamínicos	Vitaminas
PIRIDOXINA (B6)	Suplementos vitamínicos	Vitaminas
CLEMBUTEROL CLORHIDRATO	Agonista selectivo de receptores beta-2 adrenérgico	Broncodilatador
AMBROXOL	Mucolítico	Mucolítico
COMPLEJO DE HIRRO III	Suplementos minerales	Antianémico
FENILEFRINA	Simpaticomimético	Descongestivo
GUAIFENESINA	Expectorante	Expectorante
DEXTROMETORFANO	Alcaloides del opio	Antitusígeno
IBUPROFENO	AINE	Antipirético/Antiinflamatorio
PARACETAMOL	AINE	Antipirético/Analgésico
CETIRIZINA	Piperazina	Antihistamínico
ALBENDAZOL	Benzimidazol	Antihelmíntico
TRIMETOPRIMA	Sulfonamida	Antibacteriano
SULFAMETOXAZOL	Sulfonamida	Antibacteriano
LEVODROPROPIZINA	Antitusígenos	Antitusígeno
LACTULOSA	Laxantes osmóticos	Laxante

Fuente: Elaboración propia de los autores

Analizando las Tablas 16, 17, 18 y gráficos 1, 2 y considerando además el grado de dificultad de limpieza del producto fabricado, frecuencia de uso del IFA, uso de los equipos y ser el más activo, se elige como el peor caso a PREDNISOLONA.

Tabla N°19 Resumen de la elección del IFA como peor caso

IFA	Grupo farmacológico	Tamaño de lote	Solubilidad		Toxicidad oral ratas (mg/kg)		Dosis terapéutica mínima (mg/día)		Valoración del p.a.	Producción periodo 2016-2018
			S	2	240 mg/kg	4	5mg/día	4		
PREDNISOLONA 5mg/5mL	Corticosteroide	400 L	S	2	240 mg/kg	4	5mg/día	4	10	27600L

La tabla N° 19, resume la elección del IFA denominado “PEOR CASO”, por pertenecer a un grupo farmacológico denominado como los más activos (dosis terapéuticas bajas), presentar un tamaño de lote mayor, por presentar una cierta dificultad en la limpieza del producto, presentar una DL₅₀ considerada en el grupo de muy tóxicos, en esta selección también se tomaron criterios de frecuencia de fabricación del producto, consistencia del producto y medicamento más utilizado en la población pediátrica.

4.2. EVALUACIÓN DE LOS EQUIPOS Y SELECCIÓN DEL PEOR CASO

Los equipos son clasificados según el proceso en los que estos intervienen, ya sea en los procesos de fabricación o envase y luego se elige el más crítico como resultado de aplicar los criterios del peor caso (método RRF). En primer lugar, se realiza la evaluación de todos los equipos utilizados en la planta farmacéutica, para luego clasificar según el nivel de riesgo que representan cada uno de estos equipos en los procesos de manufactura y el producto final.

4.2.1. Evaluación de los equipos de la planta farmacéutica

A continuación, en la tabla N°20 se detallan las características de cada equipo según la criticidad y en la tabla N°21, el cálculo del factor RRF de los equipos evaluados la planta farmacéutica.

**Tabla N° 20 Características de los equipos evaluados en la planta
farmacéutica**

CÓDIGO	EQUIPO / MÁQUINA	FRECUENCIA DE USO	DESMONTAJE	FACILIDAD DE LIMPIEZA	PUNTOS MUERTOS	TIPO DE MATERIAL
M001	MARMITA ELÉCTRICA DE 300L	Diario	Totalmente	Liso	Si (accesibles)	Acero inoxidable
E002	CONGELADORA ELECTROLUX	Diario	No desmontable	Liso	No	Otro material
M003	FOLIADORA UNIVERSAL UHLMANN	Diario	Totalmente	Liso	No	Acero inoxidable + otro material
E004	AGITADOR TIPO PEDESTAL 1	Diario	Totalmente	Liso	No	Acero inoxidable
E005	TANQUE DE FABRICACIÓN 1 DE 400L	Diario	No desmontable	Liso	Si (no accesibles)	Acero inoxidable
E006	TANQUE DE FABRICACIÓN 2 DE 400L	Diario	Totalmente	Liso	No	Acero inoxidable
E007	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 200 L	Regular	No desmontable	Liso	Si (no accesibles)	Acero inoxidable
M008	MARMITA ELÉCTRICA DE 180L	Diario	Parcialmente	Liso	Si (accesibles)	Acero inoxidable
E009	FILTRO PRENSA	Diario	Totalmente	Poroso	Si (accesibles)	Acero inoxidable + otro material
M010	ENVASADORA MIP-1500	Diario	Totalmente	Liso	Si (accesibles)	Acero inoxidable + otro material
E011	AGITADOR TIPO PEDESTAL 2	Regular	Totalmente	Liso	No	Acero inoxidable
E012	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 600 L	Regular	Totalmente	Liso	Si (accesibles)	Acero inoxidable
E013	BOMBA NEUMÁTICA DE TRASVASE	Mucho	Totalmente	Poroso	Si (accesibles)	Acero inoxidable + otro material

Grado de criticidad:

	Criticidad baja
	Criticidad media
	Criticidad alta

En el análisis de riesgo realizado (método RRF, tabla N°13) en la tabla N°20, se tomó criterios como tipo de material, facilidad de limpieza, frecuencia de uso, desmontaje y la accesibilidad para realizar la limpieza, para clasificar el grado de criticidad de los equipos multifuncionales utilizados en la planta. Según estos criterios se puede designar colores semáforo para diferenciar el grado de riesgo que estos representan donde, el color rojo es indicativo para el equipo de mayor frecuencia en el uso, que no es desmontable, presenta dificultades para su limpieza, tiene puntos muertos y es un material diferente al acero inoxidable 360L,

el color verde es todo lo opuesto a lo mencionado y el color naranja es un intermedio entre los dos anteriores.

Tabla N°21 Cálculo del factor RRF de los equipos evaluados en la planta farmacéutica.

CÓDIGO	EQUIPO/ MÁQUINA	FRECUENCIA DE USO (x4)	DESMTAJ E (x3)	FACILIDAD DE LIMPIEZA (x2)	PUNTOS MUERTOS (x2)	TIPO DE MATERIAL (x2)	RRF
M001	MARMITA ELÉCTRICA DE 300L	1.00	0.25	0.25	0.50	0.25	6.75
E002	CONGELADORA ELECTROLUX	1.00	0.75	0.25	0.00	0.75	8.25
M003	FOLIADORA UNIVERSAL UHLMANN	1.00	0.25	0.25	0.00	0.50	6.25
E004	AGITADOR TIPO PEDESTAL 1	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	5.75
E005	TANQUE DE FABRICACIÓN 1 DE 400 L	1.00	0.75	0.25	0.75	0.25	8.75
E006	TANQUE DE FABRICACIÓN 2 DE 400 L	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	5.75
E007	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 200 L	0.50	0.75	0.25	0.75	0.25	6.75
M008	MARMITA ELÉCTRICA DE 180L	1.00	0.50	0.25	0.50	0.25	7.50
E009	FILTRO PRENSA	1.00	0.25	0.75	0.50	0.50	8.25
M010	ENVASADORA MIP-1500	1.00	0.25	0.25	0.50	0.50	7.25
E011	AGITADOR TIPO PEDESTAL 2	0.50	0.25	0.25	0.00	0.25	3.75
E012	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 600 L	0.50	0.25	0.25	0.50	0.25	4.75
E013	BOMBA NEUMÁTICA DE TRASVASE	0.75	0.25	0.75	0.50	0.50	7.25

En la tabla N° 21 se asignaron parámetros de criticidad según el método empleado, para realizar los cálculos del factor de riesgo de modo que, el valor obtenido será directamente proporcional al riesgo que representa el equipo o maquina en cuanto a la limpieza.

4.2.2. Evaluación de los equipos de la sección líquidos de uso oral de la planta farmacéutica.

Teniendo en cuenta las características del producto procesado, forma farmacéutica y vía de administración, se enfocó a los equipos utilizados para procesar fármacos de uso oral (sección líquidos orales).

En la tabla N°22, se indican las características de los equipos evaluados en la sección líquidos orales objetos de estudio según la criticidad y en la tabla N° 23, los RRF de equipos utilizados en la sección líquidos orales objetos de estudio.

Tabla N°22 Características de los equipos evaluados en la sección líquidos orales según la criticidad

CODIGO	EQUIPO / MÁQUINA	FRECUENCIA DE USO	DESMONTAJE	FACILIDAD DE LIMPIEZA	PUNTOS MUERTOS	TIPO DE MATERIAL
E004	AGITADOR TIPO PEDESTAL 1	Diario	Totalmente	Liso	No	Acero inoxidable
E005	TANQUE DE FABRICACIÓN 1 DE 400 L	Diario	No desmontable	Liso	Si (no accesibles)	Acero inoxidable
E006	TANQUE DE FABRICACIÓN 2 DE 400 L	Diario	Totalmente	Liso	No	Acero inoxidable
E007	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 200 L	Regular	No desmontable	Liso	Si (no accesibles)	Acero inoxidable
M008	MARMITA ELÉCTRICA DE 180L	Diario	Parcialmente	Liso	Si (accesibles)	Acero inoxidable
E009	FILTRO PRENSA	Diario	Totalmente	Poroso	Si (accesibles)	Acero inoxidable + otro material
M010	ENVASADORA MIP-1500	Diario	Totalmente	Liso	Si (accesibles)	Acero inoxidable + otro material

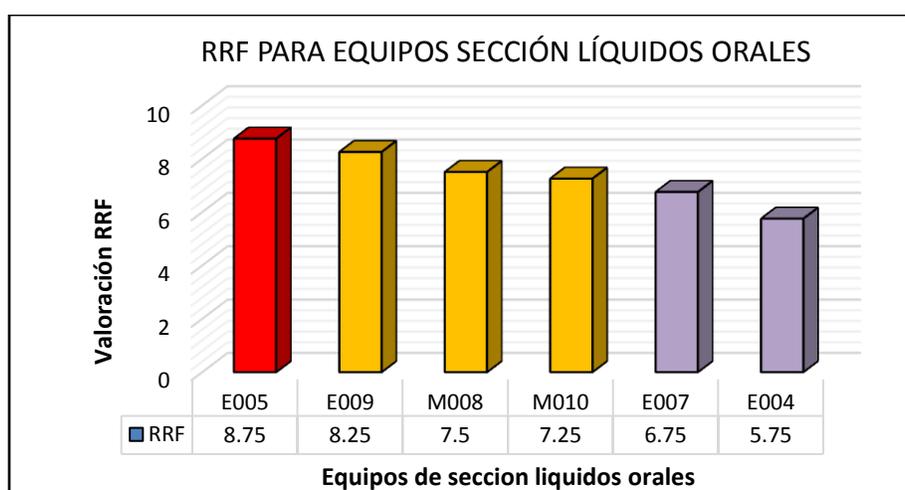
Tabla N°22 resume el tren de equipos que intervienen en la fabricación de fármacos líquidos de uso oral, en el cual el equipo E005 representa el riesgo mayor, según la clasificación semáforo aplicada para diferenciar el grado de criticidad.

Tabla N°23 Valoración RRF de equipos utilizados en la sección líquidos orales

CÓDIGO	EQUIPO /MÁQUINA	FRECUENCIA DE USO (x4)	DESМONTAJE (x3)	FACILIDAD DE LIMPIEZA (x2)	PUNTOS MUERTOS (x2)	TIPO DE MATERIAL (x2)	RRF
E004	AGITADOR TIPO PEDESTAL 01	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	5.75
E005	TANQUE DE FABRICACIÓN 01 DE 400 L	1.00	0.75	0.25	0.75	0.25	8.75
E006	TANQUE DE FABRICACIÓN 2 DE 400 L	1.00	0.25	0.25	0.00	0.25	5.75
E007	TANQUE DE FABRICACIÓN DE 200 L	0.50	0.75	0.25	0.75	0.25	6.75
E009	FILTRO PRENSA	1.00	0.25	0.75	0.50	0.50	8.25
M010	ENVASADORA MIP-1500	1.00	0.25	0.25	0.50	0.50	7.25

En base a los análisis realizados a los equipos y máquinas de la sección líquidos de la planta farmacéutica y plasmadas en las tablas N° 22 y 23 se obtuvo tres equipos con mayor puntuación de riesgo que son: tanque de fabricación 01 de 400L (E005), filtro prensa (E009) y envasadora MIP-1500 (M010), con puntajes de 8.75, 8.25 y 7.25 respectivamente, de los cuales se selecciona al equipo E005 como el más crítico por tener el grado y factor de riesgo más alto.

Gráfica N°3 Representación gráfica del cálculo de factor RRF para equipos con mayor riesgo en la sección líquidos orales.



Por ser el equipo con mayor frecuencia de uso según la gráfica 1, proceso de limpieza llevado a cabo in situ, presentar puntos muertos, no desmontable y por

ende el más crítico según las tablas 22, 23 y Grafica N°3, se selecciona como el “peor caso” el **Tanque 1 de fabricación de 400L (equipo E005)**.

4.3. SELECCIÓN DE LOS PUNTOS DE MUESTREO

Para la selección de los puntos de toma de muestra se aplicó el método de Modos de Falla y Análisis de Efectos (FMEA, por sus siglas en inglés), donde se hizo un análisis de las posibles fallas que pudiera tener el sistema y los efectos provocados por estas. En la tabla N° 24, se nombran el estudio de Modos de Falla aplicados al tanque de fabricación de 400 L, seleccionado como el peor caso para los equipos. Los puntos seleccionados fueron medidos de 25cm² para extrapolar el límite de aceptación.

Tabla N°24 Cálculo del Numero Prioritario de Riesgo (NPR) para el equipo E005 seleccionado como el peor caso

PASOS CLAVE DEL PROCESO	MODO POTENCIAL DE FALLA	EFFECTOS DE FALLAS POTENCIALES	SEVERIDAD	CAUSAS POTENCIALES /MECANISMOS DE FALLA	OCURENCIA	Controles de ocurrencia	DETECCIÓN	NPR
¿Cuál es el paso del proceso?	¿De que manera puede fallar dicho proceso?	¿Cuál es el impacto de las variables de los pasos clave cuando hay un fallo (cliente o requerimientos internos)?	¿Qué tan severo es el efecto para el cliente caso ocurriera la falla?	¿Qué causa que el paso clave falle?	¿Qué tan seguido ocurre la causa o modo de fallo?	¿Cuáles son los controles existentes y procedimientos preventivos de causa o modo de falla?	¿Qué también pueden detectar la causa o modo de falla?	
Limpeza y desinfección	Limpeza limitada	LOCAL: Detencion del proceso productivo, Presencia de trazas de producto A en B (contaminacion cruzada).	7	1. Exceso de tiempo de espera para realizar la limpieza del equipo.	3	determinar el tiempo maximo de espera de equipo por limpiar (pilotos, poka yokes, check list, etc)	9	189
		MAXIMO PRÓXIMO: Presencia de trazas de producto A en B.	6	2. Falta de material adecuado para la limpieza.	2	Aplicar material adecuado para la limpieza.	10	120
		CON EL CLIENTE: Presencia de RAM.	9	3. Piezas no desmontables.	2		10	180

Se tomaron 7 puntos de muestreo para el tanque 1 de fabricación de 400L, los mismos que se detallan en la Tabla N° 25 y Figura N° 15. Estos puntos fueron medidos exactamente (25 cm²) para poder extrapolar al límite de aceptación establecida a excepción de los puntos inaccesibles.

Figura N°14 Tanque 01 de fabricación de 400L.



La figura N°14, muestra el equipo más crítico de la sección líquidos orales seleccionado como el peor caso, el equipo está hecho con acero inoxidable 360L, en él se procesan frecuentemente la mayoría de los productos de la compañía, la limpieza se realiza in situ de forma manual.

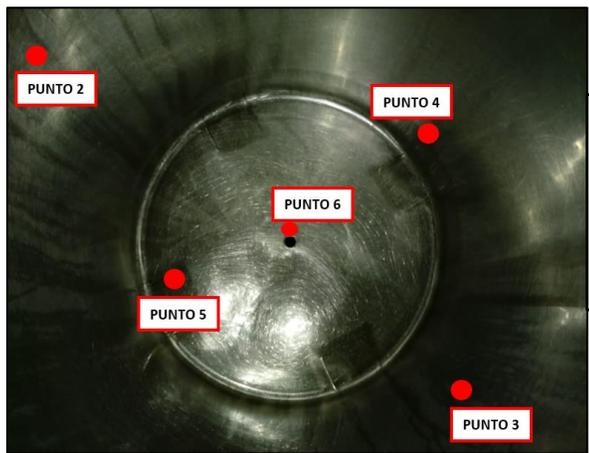
Tabla N° 25 Puntos de muestreo seleccionados.

	PUNTO DE MUESTREO	SUPERFICIE DE MUESTREO
P1	Borde o boca del equipo	25 cm ²
P2	Pared interna superior	25 cm ²
P3	Pared interna media	25 cm ²
P4	Pared interna inferior	25 cm ²
P5	Base interna	25 cm ²
P6	Tubo de descarga interna	Referencial
P7	Válvula de descarga	Referencial

Figura N°15. Distribución de los puntos de muestreo en el equipo más crítico.



Borde o boca del equipo



- Pared interna superior.
- Pared interna media.
- Pared interna inferior.
- Base interna.
- Tubo de descarga interna.



Válvula de descarga

Los puntos de muestreo fueron seleccionados y distribuidos en base a la evaluación de riesgo realizado en la tabla N°24 (método FMEA) y se tomó en cuenta la accesibilidad forma geométrica y el método de limpieza utilizado (proceso de limpieza manual).

4.3.1. Muestreo

a. Muestreo para el análisis cuantitativo de trazas.

El muestreo se realizó tal y como se nombra en el apartado anterior (metodología), en donde se hizo uso de hisopos empapados en 5 mL solución diluyente (agua purificada) para luego ser analizados por cromatografía líquida de alta resolución o HPLC.

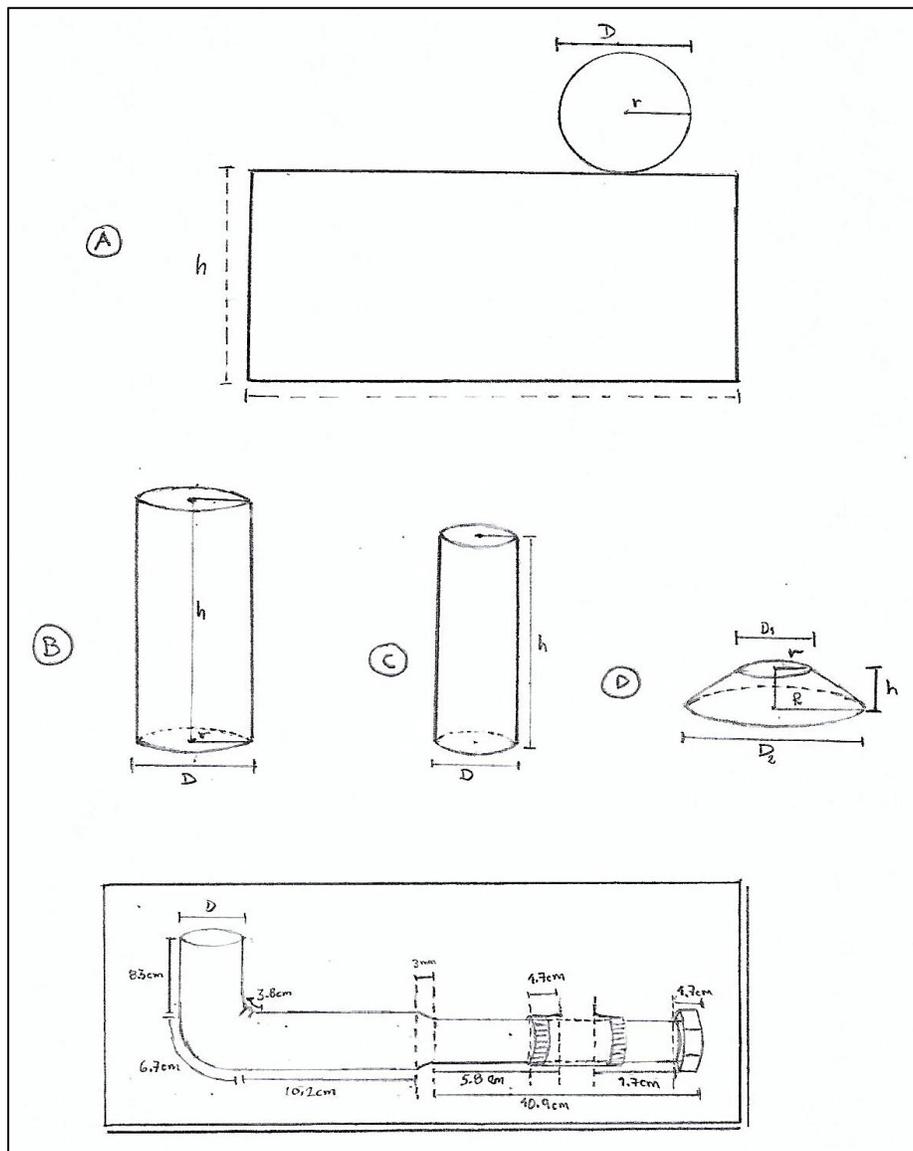
b. Muestreo para el análisis cualitativo y microbiológico.

El muestreo para el análisis cualitativo se utilizó el agua del último enjuague y microbiológico se realiza como se indica en la parte de metodología, y para el muestreo del análisis microbiológico se empleó el método del hisopo en los puntos adyacentes a los puntos de muestreo para el análisis cuantitativo.

4.4. CÁLCULO DE SUPERFICIE TOTAL DEL EQUIPO

Para el cálculo de límite de aceptación del residuo, se necesita conocer la superficie total del equipo que entra en contacto con el producto procesado. Para ello el equipo se divide en partes basándose en sus diferentes formas geométricas que adopta y se mide todas las partes que lo conforman, finalmente se suman todas las superficies obteniendo así, la superficie total del equipo. En el caso de este trabajo se calcula la superficie del equipo más crítico (tanque de fabricación de 400L).

Figura N°16. Ejemplo de cálculo de superficie del tanque 1 de fabricación de 400L.



La superficie total calculada para el equipo E005 seleccionado como el peor caso (Tanque 01 de Fabricación de 400L), fue de **26542.6447 cm²**.

4.5. CÁLCULO DEL LÍMITE DE ACEPTACIÓN PARA LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA.

El cálculo de los límites de aceptación se realizó en base al IFA más crítico seleccionado como el peor caso (Prednisolona).

Los límites de residuo aceptable (LAR), se calcularon en base a las ecuaciones del método de límite de residuo según la dosis terapéutica, límite según la toxicidad del residuo, método de las 10 ppm o por defecto y método de la limpieza visual u organoléptica. A continuación, se detallan los cálculos y los diferentes valores generales considerados:

- Se considera 200 L, como tamaño de lote menor del producto posterior.
- Dosis diaria máxima del producto B: 1600mg.
- Área de superficie total: 26542.6447 cm².

4.5.1. Cálculo del límite de residuo aceptable según la dosis terapéutica.

El cálculo se realiza aplicando la fórmula de límite de residuo aceptable o LAR en el siguiente producto B.

$$LAR = \frac{DTminA(mg) \times FS \times TLprodB (g) \times ASM(cm^2)}{DDmaxB(g) \times SE (cm^2) \times V (mL)} \times 1000ug$$

Dónde:

- FS: Factor de seguridad para productos de administración oral (0.001).
- DTminA: Dosis terapéutica mínima del producto A (5mg).
- TLprodB: Tamaño de lote del producto posterior (200L).
- ASM: Area de superficie muestreada (25 cm²).
- DDmaxB: Dosis diaria máxima del producto posterior (1600mg)
- SE: Superficie total del equipo seleccionado como el peor caso (26542.6447 cm²).
- V: Volumen empleado para el hisopado (5mL).

$$LAR = \frac{5mg \times 0.001 \times 230000g \times 25cm^2}{1.600g \times 26542.6447cm^2 \times 5mL} \times 1000ug$$

$$LAR= 135.3953 \mu\text{g/mL}$$

4.5.2. Cálculo del límite según la toxicidad del residuo.

El cálculo del límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción se realiza en base a la siguiente ecuación:

$$LAR = \frac{DL_{50} \times FS \times 0.0005 \times 70 \times TL_{prodB}}{SE \times DD_{maxB}} \times \frac{ASM}{V} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mg}}$$

$$LAR = \frac{240 \frac{\text{mg}}{\text{kg}} \times 0.001 \times 0.0005 \times 70 \text{kg} \times (2.3 \times 10^8 \text{mg})}{26542.6447 \text{cm}^2 \times 1600 \text{mg}} \times \frac{25 \text{cm}^2}{5 \text{mL}} \times 1000 \frac{\mu\text{g}}{\text{mg}}$$

$$LAR= 227.4641 \mu\text{g/mL}.$$

4.5.3. Límite de aceptación según criterio de 10 ppm

- 10mg/L: Representa la presencia de un tanto de contaminante, en el siguiente producto procesado (10ppm).

4.5.4. Límite de aceptación según criterio organoléptico

El límite según el criterio organoléptico está situado aproximadamente en una concentración de 4 y 20 $\mu\text{g/cm}^2$, con una superficie iluminada a 400 lux. Este valor se calcula en base a 100 μg /hisopo y para un área de 25cm^2 , por lo tanto 100 μg /hisopo será igual a $4\mu\text{g/cm}^2$. En la prueba llevada a cabo no se presenció partícula alguna en las superficies a las que se aplicó este método, porque las trazas se perciben (si fuera el caso) de una manera cualitativa y en particular organolépticamente, por lo que no se considerara como un posible límite de aceptación.

4.6. SELECCIÓN DEL LÍMITE DE ACEPTACIÓN

En la tabla N°26, se selecciona los resultados obtenidos en el punto 4.5.

Tabla N° 26 Selección del límite de aceptación

METODO	L.A.R. OBTENIDO
--------	-----------------

Límite de residuo aceptable según la dosis terapéutica.	135.3953 µg/mL.
Límite según la toxicidad del residuo.	227.4641µg/mL.
Límite de aceptación según criterio de 10 ppm.	10 µg/mL.

Analizando la Tabla N°25, se optó por establecer como el límite de residuo aceptable a 10 ppm, el cual es un método que se acude en caso de que los métodos previamente aplicados dieran concentraciones elevadas o fuera de lo aceptable como lo recomienda la FDA, debido a que cualquier agente activo de un producto puede aparecer en el siguiente producto en un máximo de 10 ppm o 0.01mg/mL.

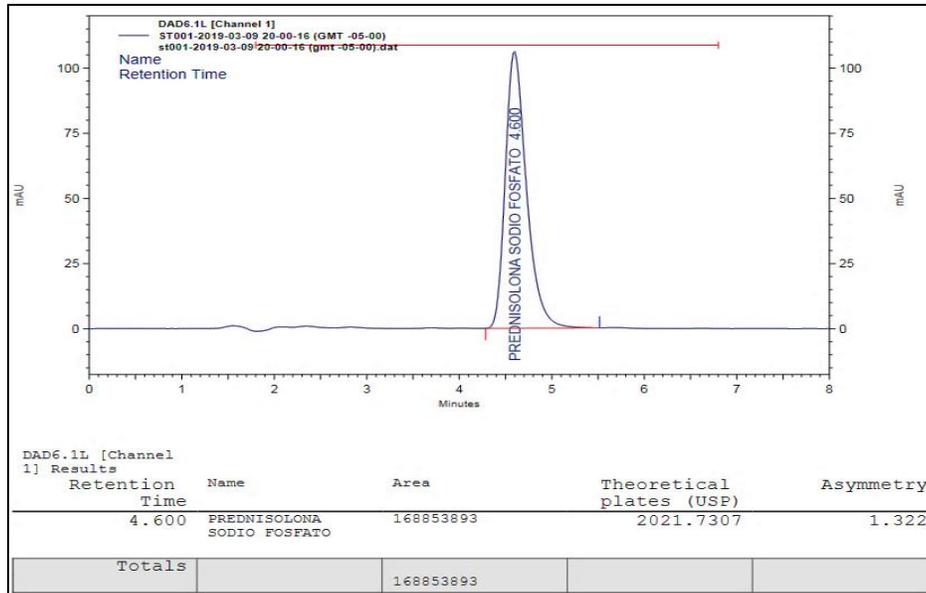
4.7. VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

Para validar el método analítico inicialmente se determinó los límites de aceptación del contaminante, a partir del cual nace la concentración de trabajo utilizado como estándar de referencia para realizar los parámetros de validación del método. Estos cálculos de aceptación dieron como resultado 400ppm, siendo un dato muy alto, para estos casos la FDA propone tomar 10ppm como máximo permisible de contaminante, es por esta razón que se tomó como límite máximo 10ppm de contaminante permisible en equipos de fabricación de medicamentos orales.

4.7.1. Selectividad

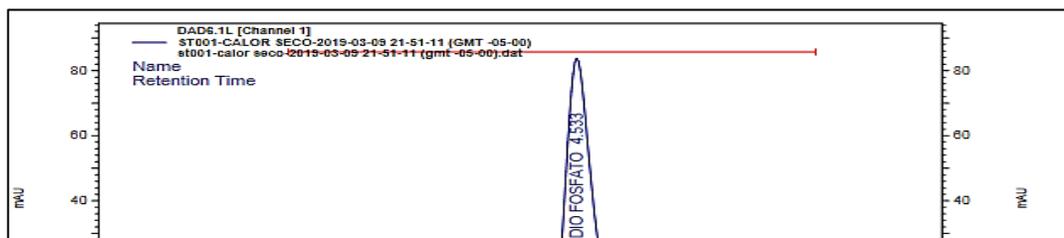
Este parámetro nos permite definir al principio activo diferenciándolo de otras sustancias posibles que pueda haber en la matriz de la muestra o en la fase móvil. En la figura N°17 se observa el cromatograma correspondiente al estándar de Prednisolona sodio fosfato (peor caso), en el que se muestra al pico principal libre, sin interferencia alguna.

Figura N° 17 Cromatograma de estándar de Prednisolona sodio fosfato.



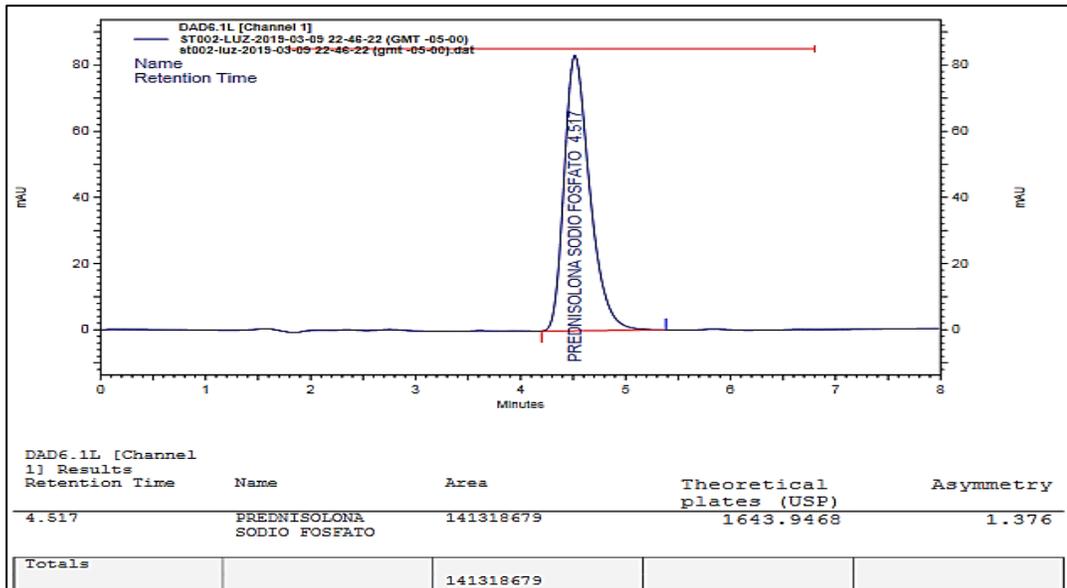
Se muestran también los cromatogramas de Prednisolona sodio fosfato y fase móvil, sometidos a distintas condiciones de estrés, en los que se observa que el pico principal no ha sido afectado por ningún otro pico que se haya podido generar como consecuencia de las condiciones de estrés a la que se le sometió. Respecto al estándar de Prednisolona sodio fosfato, las muestras sometidas a calor seco generaron picos pequeños, el más próximo al pico principal tiene un tiempo de retención de 3.5 y nuestro estándar de 4.5 demostrándose que no interfiere al analito, así mismo, en la hidrolisis alcalina eluye un pico que sale a los 2.6, que tampoco incomoda la elución del pico de Prednisolona sodio fosfato, y respecto a la fase móvil, este siendo sometido a las condiciones de estrés no genera ningún pico.

Figura N° 18 Estándar de Prednisolona sodio fosfato sometido a calor seco



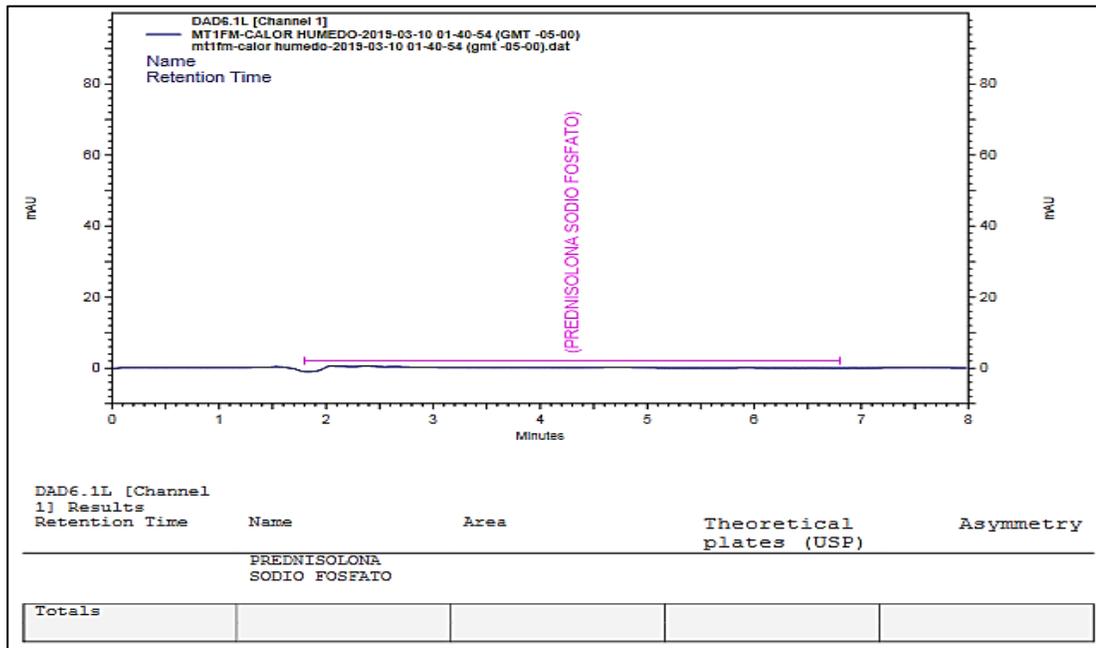
En la figura N°18 se aprecia la elución de varios picos distintos que no interfieren al pico del estándar, sin embargo, el área de Prednisolona sodio fosfato sometido a calor seco es menor al área del estándar libre de estrés representado en la figura N°17, esto se debe a la degradación que sufre el principio activo frente al calor seco.

Figura N° 19: Estándar de Prednisolona sodio fosfato sometido a LUZ.



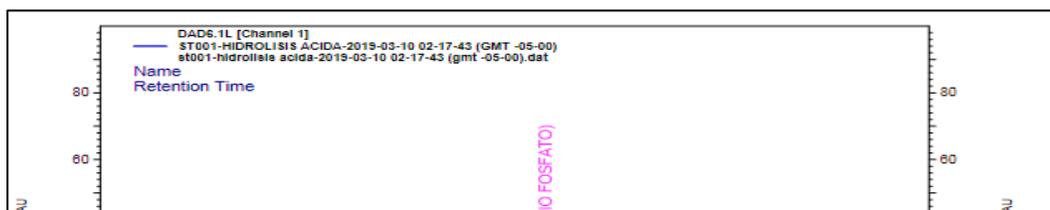
En la figura N°19 se aprecia el pico de Prednisolona sodio fosfato sometido al estrés de la luz, no hay elución de otros picos que lo interfieran, a pesar de ello, su área es menor al área del estándar libre de estrés (figura N°17), lo que significa que el principio activo sufre una degradación al ser expuesta a la luz en un tiempo prolongado, y se debe tener en cuenta que una de sus características es su sensibilidad a la luz.

Figura N°20 Fase móvil sometido a calor húmedo



En la figura N°20 se aprecia el cromatograma de la fase móvil sometida a calor húmedo, la ausencia de picos y la linealidad de su recorrido demuestra que el estrés al que fue sometido no generó ninguna degradación manteniéndose estable sin ninguna probabilidad de interferencia para el pico principal.

Figura N°21 Fase móvil sometido a hidrólisis ácida



La figura N°21 representa el cromatograma de la fase móvil sometida a hidrólisis acida (ácido clorhídrico 1N), se aprecia que no hay elución de ningún pico lo que indica que no hay degradación de la fase móvil, demostrando su estabilidad ante una hidrólisis ácida.

En la tabla N° 27 se presenta las áreas de la prednisolona sodio fosfato sometido a condiciones de estrés que han sido preparadas al 100% para su comparación con el estándar de referencia.

Tabla N°27 Estándar de prednisolona sodio fosfato sometido

a condiciones de estrés

	Peso ST (mg)	Área	Área promedio
Estándar 1	25.5	168853893	168793173.2
		168708553	
		168908563	
		169009004	
		168485853	
Estándar 2	25.4	167694738	167935612.7
		167409143	
		168702957	
calor seco	25.0	137124958	138508616
calor seco	25.0	139892274	
luz	25.2	141318679	141604304
luz	25.2	141889929	
calor húmedo	25.1	164538010	163151652.5
calor húmedo	25.1	161765295	
hidrólisis ácida	25.4	167252854	167331922.5
hidrólisis ácida	25.4	167410991	
Hidrólisis alcalina	25.4	154795970	155230610.5
Hidrólisis alcalina	25.4	155665251	
Hidrólisis oxidativa	25.1	152596152	153857690.5
Hidrólisis oxidativa	25.1	155119229	

El estándar de Prednisolona Sodio Fosfato sometido a hidrólisis ácida, hidrólisis alcalina y oxidativa presenta áreas similares al estándar 1 y 2, demostrando ser estables a estas condiciones de estrés. Sin embargo, al ser sometido a calor seco y a la luz, hay una diferencia de áreas respecto a los estándares 1 y 2, siendo menores, lo que significa una ligera degradación del principio activo, esta degradación se debe también a la naturaleza de la Prednisolona Sodio Fosfato al ser sensibles a la luz y al calor.

Tabla N°28 Fase móvil sometido a condiciones de estrés

MUESTRA	CONCENTRACIÓN	ÁREA	ÁREA PROMEDIO
FASE MÓVIL	0.00	0.00	0.00
FASE MÓVIL	0.00	0.00	0.00
FASE MÓVIL	0.00	0.00	0.00
CALOR SECO	0.00	0.00	0.00
CALOR SECO	0.00	0.00	0.00
LUZ	0.00	0.00	0.00
LUZ	0.00	0.00	0.00
CALOR HÚMEDO	0.00	0.00	0.00
CALOR HÚMEDO	0.00	0.00	0.00
HIDRÓLISIS ACIDA	0.00	0.00	0.00
HIDRÓLISIS ACIDA	0.00	0.00	0.00
HIDRÓLISIS ALCALINA	0.00	0.00	0.00
HIDROLISIS ALCALINA	0.00	0.00	0.00
HIDROLISIS OXIDATIVA	0.00	0.00	0.00
HIDROLISIS OXIDATIVA	0.00	0.00	0.00

En la tabla N°28, el resultado de las áreas para cada muestra de fase móvil sometido a las distintas condiciones de estrés es cero (0), es decir no hubo ninguna elución de picos, manteniéndose limpia la base línea formada por la fase móvil, no hubo degradación de fase móvil.

Podemos decir que el método analítico cumple con el parámetro de selectividad ya que es específico para la prednisolona sodio fosfato, es capaz de diferenciar al principio activo de otros componentes a la misma longitud de onda (especifico), no presenta interferencias que perjudiquen la integridad del pico principal manteniéndose estable antes las diferentes situaciones de estrés a las que se sometió.

4.7.2. Linealidad

Este parámetro de validación se realizó tomando cinco puntos: 50%, 75%,100%,125% y 150%, cada una de estas contracciones se preparó por triplicado y a su vez cada muestra se inyectó por tres veces, se tomó como partida la concentración del estándar de Prednisolona sodio fosfato para la preparación de muestras de los cinco puntos.

En la tabla N°29, se muestra las 5 concentraciones y sus respectivas áreas obtenidas.

Tabla N°29 Linealidad del método

% ANALITO	PESO (mg)	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	ÁREA
50%	25.6	0.004731392	76805574.67
	25.4	0.004694428	75839078.33
	25.0	0.004620500	74839761.0
75%	25.8	0.007152534	114846683.3
	25.9	0.007180257	116998060.3
	25.9	0.007180257	121583952.7
100%	25.8	0.009536712	155253063.7
	26.3	0.009721532	156883402.7
	25.3	0.009351892	156011740.0
125%	25.2	0.01164366	186261534.3
	25.0	0.01155125	185861341.0
	25.0	0.01155125	187599470.0
150%	25.0	0.0138615	226210026.0
	25.4	0.014083284	226864884.3
	25.9	0.014360514	233663946.7

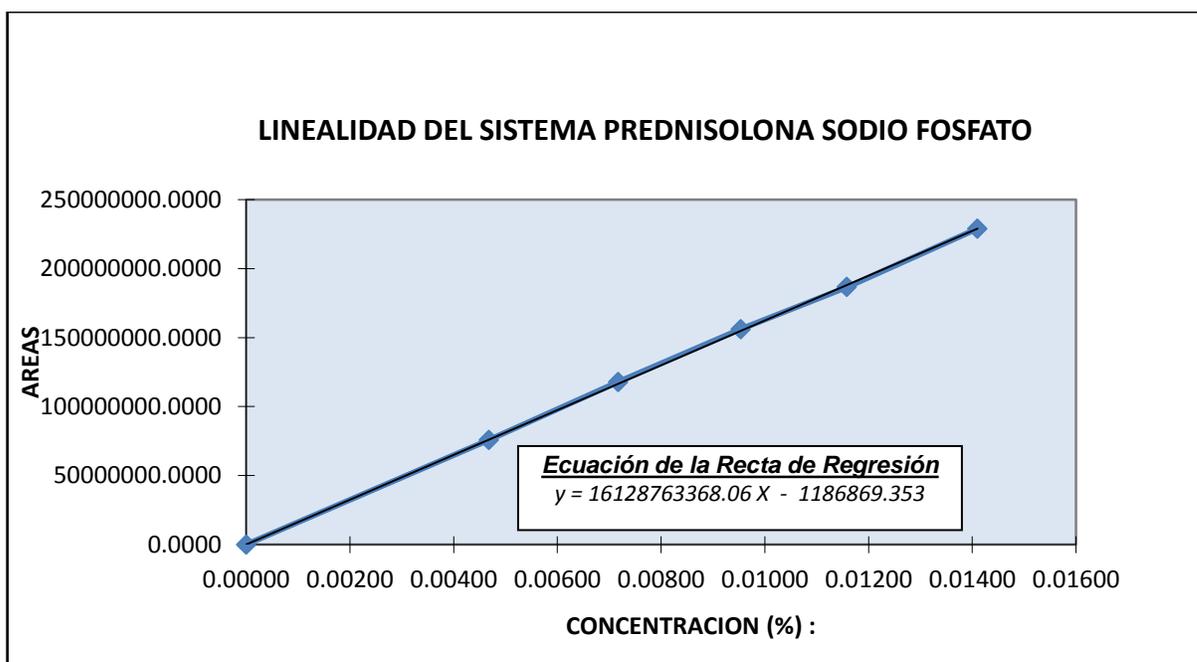
Se puede apreciar que las áreas obtenidas a las distintas concentraciones de prednisolona sodio fosfato son proporcionales, es decir a menor concentración menor área como es el caso del 50% y a mayor concentración de activo más grande es el área (150%), esta relación directa permite formar una línea recta mostrando la linealidad del método. Para los cinco puntos, los pesos de estándar fueron el mismo, sin embargo, la dilución fue distinta para obtener diferentes concentraciones.

A partir de estos resultados obtenidos, se establece la curva de calibración que relaciona las áreas obtenidas con las concentraciones a las que se

preparó el estándar y se halla la recta de regresión por el método de los mínimos cuadrados.

La figura N° 22, se representa el parámetro de linealidad de sistema, en el que se muestra los cinco puntos de análisis tomado: 50%, 75%, 100%, 125% y 150%.

Figura N° 22 Regresión lineal de estándar de prednisolona sodio fosfato.



La recta pasa por el origen de coordenadas, lo cual significa que el método no está siendo afectado por algún error, y que la linealidad es buena.

En la gráfica, "x" representa las concentraciones de prednisolona sodio fosfato y "y" representa las áreas obtenidas a estas concentraciones. Se observa que se forma una línea recta, lo que indica que las áreas son proporcionales a las cinco concentraciones de prednisolona sodio fosfato, logrando la proporcionalidad entre analito y respuesta.

Tabla N°30 Concentración versus área

CONCENTRACIÓN (mg/mL) (x)	AREA (y)
0.004682107	75828138
0.007171016	117809565.4
0.009536712	156049402.1
0.011582053	186574115.1
0.014101766	228912952.3

Con los datos de “X” y “Y”, se aplica el método de mínimos cuadrados para hallar la ecuación de la recta de regresión que se muestra a continuación:

➤ Ecuación de la recta de regresión.

$$y = bX - a$$

$$Y = 16128763368.06X - 1186869.353$$

Siendo “X” la concentración de Prednisolona sodio fosfato (contaminante), “Y” la respuesta, “b” el valor de la pendiente y “a” el termino independiente. A continuación, se muestra como se determinó la ecuación de la recta.

Cálculo de la ecuación de la recta

<p>1. RECTA DE REGRESIÓN : $y = bx + a$</p> <p>dónde : y = respuesta (área) x= concentración b=pendiente a=Intercepto</p>	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr><td>Sumatoria xy</td><td>24233348.603</td></tr> <tr><td>Sumatoria x</td><td>0.14122</td></tr> <tr><td>Sumatoria y</td><td>2295522519.0</td></tr> <tr><td>n</td><td>15</td></tr> <tr><td>Sumatoria x²</td><td>0.00149</td></tr> </table>	Sumatoria xy	24233348.603	Sumatoria x	0.14122	Sumatoria y	2295522519.0	n	15	Sumatoria x ²	0.00149
Sumatoria xy	24233348.603										
Sumatoria x	0.14122										
Sumatoria y	2295522519.0										
n	15										
Sumatoria x ²	0.00149										
<p>2. PARA HALLAR b (Pendiente):</p> $b = \frac{\sum (x - \bar{x})(y - \bar{y})}{\sum (x - \bar{x})^2} = \frac{\sum xy - \frac{\sum x \sum y}{n}}{\sum x^2 - \frac{(\sum x)^2}{n}}$ $b = \frac{24233348.603 - (0.141)(2295522519)}{0.001 - \frac{(0.141)^2}{15}}$ $b = \frac{2621622.041}{0.000162543276318157}$	<p>3. PARA HALLAR a (Intercepto):</p> $a = y - bx = \frac{\sum y - b \sum x}{n} = \frac{2295522519 - 16128763}{15} = \frac{17803040.292}{15}$ $a = 1186869.35281$										
<p>4. ECUACIÓN DE LA RECTA :</p> $y = bx + a$ $y = 16128763368.06 x + 1186869.353$	<p>Realizado por : _____</p> <p>Fecha : 2018-02-26.</p>										

Fuente: Elaboración propio de los investigadores

Tabla N°31 Parámetros de linealidad

PARAMETROS DE LINEALIDAD	ESPECIFICACIÓN	RESULTADO
Coeficiente de Correlación R	≥ 0.999	0.99933
Coeficiente de Determinación R ²	≥ 0.990	0.99865
Coeficiente de variación de respuesta	Máximo 2,0%	1.49622
“t” de student experimental	Mayor al “t” de tablas (2.306)	96.84
“t” de student experimental	Menor al “t” de tablas (2.896)	0.715

Para entender mejor la linealidad, se hizo una evaluación estadística, bajo condiciones de ciertos parámetros que se debe cumplir para tener una buena linealidad, tal es así que el coeficiente de correlación R es 0.99933, valor superior al límite (0.999), este parámetro refleja el grado de relación o ligación entre las variables X (concentración) e Y (áreas) indicando que hay una correlación del 99.9% entre la concentración ensayada y la respuesta obtenida, cumple con el coeficiente de determinación que refleja la proporción de la varianza total de Y. Por otro lado, el coeficiente de variación es menos del 2.0%, lo que indica que los resultados son muy cercanos entre ellos y no varían en más del 2.0%, cumpliendo con la especificación dada.

Así también cumple con el test de linealidad en el que “t” experimental es mayor al “t” de tablas (96,84) indicando que la probabilidad de que b sea diferente de 0 es elevada y que nuestra linealidad es correcta; respecto al test de proporcionalidad el “t” experimental es menor al “t” de tablas, reflejando que el método analítico propuesto es lineal.

4.7.3. Precisión

a. Precisión de sistema o repetibilidad instrumental

Tabla N°32 Resultados de precisión de sistema

N° MUESTRA	ESTANDAR 100% Peso (mg)	ÁREAS DE PREDNISOLONA SODIO FOSFATO	TIEMPO DE RETENCIÓN
1	25.2	163551634.0	4.82
2	25.0	160501730.0	4.82
3	25.0	160227365.0	4.82
4	25.0	162137973.0	4.83
5	25.2	162369907.0	4.83
6	25.1	162476887.0	4.83
7	25.2	161950907.0	4.83
8	25,1	162683465.0	4.85
9	25,.2	162587144.0	4.85
10	25,2	162594251.0	4.85
N° Análisis (n)		10	10
Media (x)		= 162108126.3	= 4.83300
Desviación Estándar (s)		= 1012609.322	= 0.013
Coefficiente de Variación % (DSR%)		= 0.63	= 0.26
Especificación: Máximo 2,0%			

En este resumen podemos apreciar que las áreas y los tiempos de retención no difieren en más de 0,8%, dando un coeficiente de variación de 0,63% para áreas y 0,26% para tiempo de retención, lo que indica que hay repetibilidad entre las muestras analizadas. Es decir, hay un alto grado de concordancia entre sus resultados.

En este parámetro el coeficiente de variación se evalúa con mayor rigurosidad porque su valor indica la amplia o corta cercanía entre los

resultados obtenidos a lo que se le denomina dispersión de datos, por tanto, los resultados al ser menor al 2.0% (especificación) reflejan que el método analítico cumple con este parámetro, es decir es preciso.

b. Precisión intermedia

En la figura N°23 y 24, se muestra los cromatogramas obtenidos por el analista 1 y 2, en el que se aprecia la mínima variación en el tiempo de retención y las áreas.

Figura N° 23 Comatograma de precisión intermedia - Analista 1

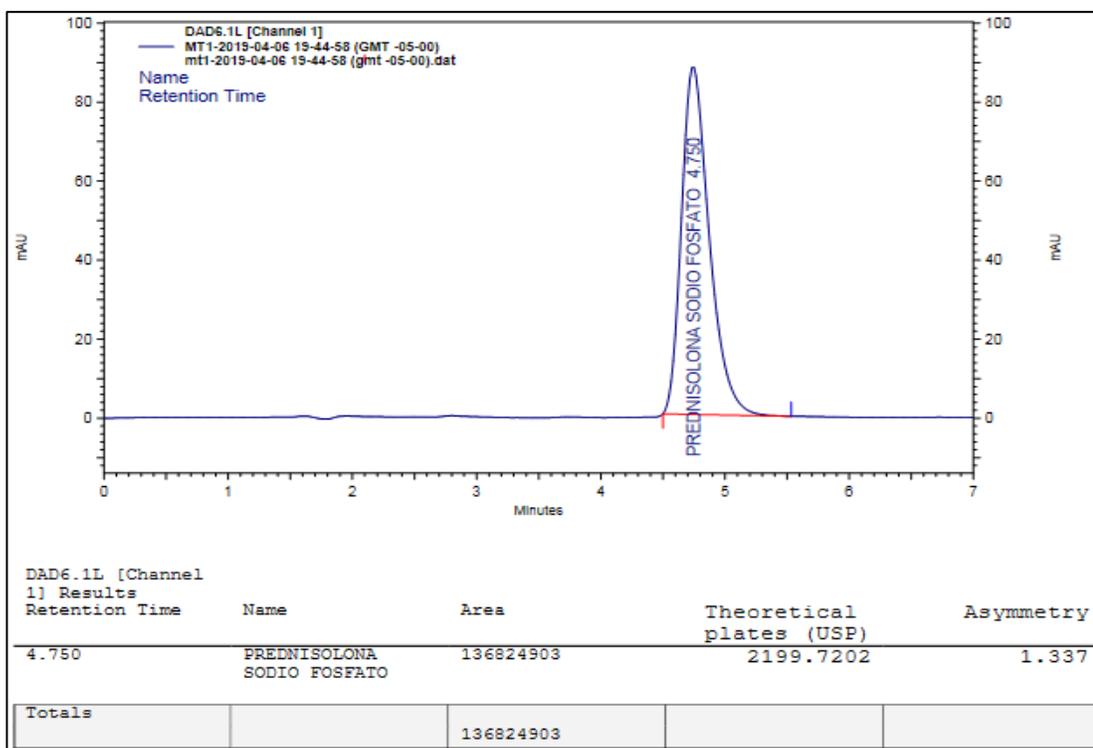
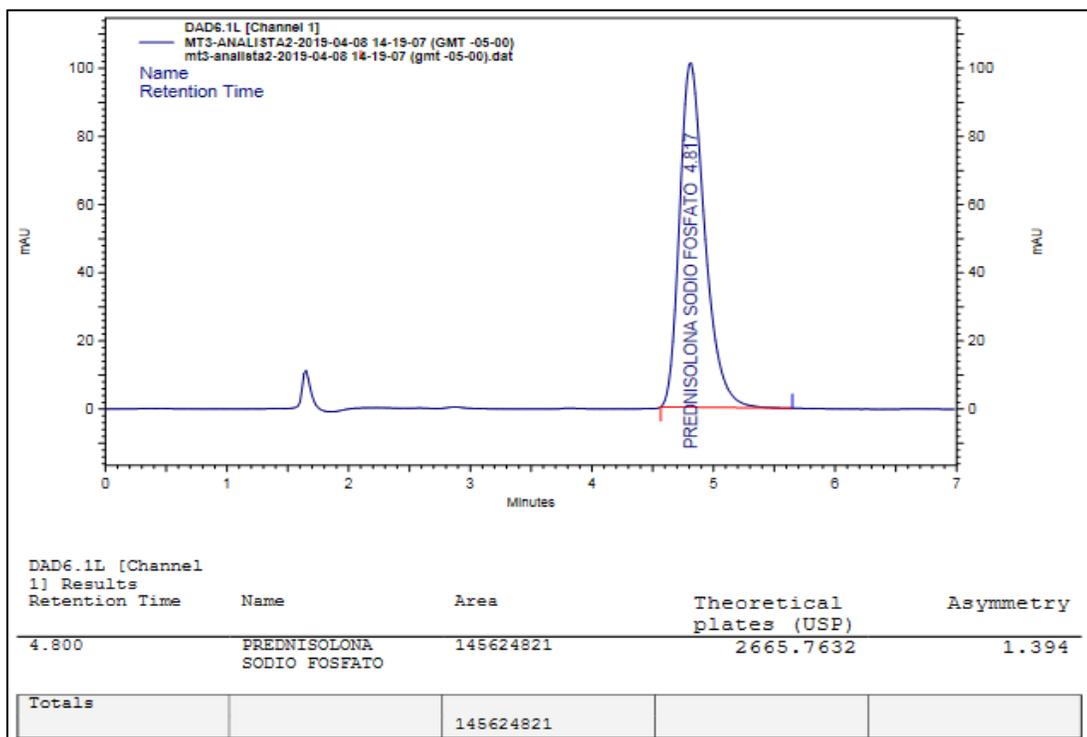


Figura N° 24 Comatograma de precisión intermedia - Analista 2



El tiempo de retención para el pico de prednisolona sodio fosfato del analista 1 es de 4.76, y de 4.80 para el analista 2, demostrándose de esta forma, la precisión del sistema analítico para distintas personas dentro del mismo ambiente de trabajo.

En la Tabla N°33 se aprecia los resultados de los dos analistas, en diferentes días, pero en el mismo equipo.

Tabla N°33 Resultados de precisión intermedia analista1 y analista 2

ANALISTA 1				ANALISTA 2		
Muestra	Peso	Promedio	% Recuperación	Peso	Promedio	% Recuperación
ST1	25.4	159742035		25.6	159866126	
ST2	25.0	160953517		25	160631643	
MT1	24.7	137545263	88.54	24.7	138040128	89.49
MT2	25	141219141	89.82	25	142014800	90.97
MT3	25	142547155.5	90.66	25.5	145457885	91.34
MT4	25	143322198	91.16	25.4	145244878	91.57
MT5	25	141348517.5	89.90	25	142494833	91.27
MT6	24.7	137782891	88.70	24.7	140826524	91.30
MT7	25	141922829.5	90.27	24.8	137687818	88.91
MT8	25	145982592	92.85	25	141720198	90.78
MT9	25	145055945	92.26	25.2	144753095	91.98
MT10	25	145390123.5	92.47	25.4	142373292	89.76
MEDIA	%DSR =1.67		90.66	%DSR=1.11		90.74

Media (X)	90.70
Desviación estándar (s)	1.252332159
Coefficiente de Variación (CV) (<2%)	1.380741052

Para la precisión intermedia, se analizó 10 muestras de prednisolona sodio fosfato al 100% por dos analistas, comparándolo con un estándar, en la tabla N°33 se aprecia las áreas muy cercanas entre analista 1 y 2, las pequeñas variaciones se deben a los diferentes pesos tomados por cada

analista y se detalla el porcentaje de recuperación para cada muestra de Prednisolona Sodio Fosfato.

En este parámetro el porcentaje de recuperación de la prednisolona sodio fosfato fue similar para ambos analistas, siendo 90.66% para el analista 1 y de 90.74% para el analista 2, con un coeficiente de variación de 1.67% Y 1.11% respectivamente, y a su vez el coeficiente de variación entre analista 1 y analista 2 es de 1.38%, siendo la desviación estándar relativa entre analistas menor del 2.0%. Este dato refleja la similaridad de los resultados que se obtuvo.

Podemos decir que el método analítico es preciso, ya que genera resultados con un coeficiente de variación menor al 2.0%.

4.7.4. Exactitud

La exactitud se determinó realizando estudios de recuperación al 50%,100% y 150% por el método del hisopado (ver anexo N°8)

El porcentaje de recuperación promedio que se obtuvo es de 87,93%, estando dentro del rango establecido, al tratarse de análisis de trazas, la FDA y la USP plantean el rango de 70% a 150%, entonces nuestra recuperación es óptima, con respecto al coeficiente de variación, las 9 mediciones generan una desviación estándar relativa de 1.25%, cumpliendo con la especificación dada, menor al 2%. Si bien el resultado obtenido no es muy cercano a la concentración original, al tratarse de una recuperación por el método del hisopado, se considera al método analítico exacto, por el hecho de obtener una recuperación superior al 70%.

En la tabla N° 34, se aprecia los porcentajes obtenidos en la recuperación por el método del hisopado.

Tabla N° 34 Resultados obtenidos en exactitud.

ESTANDAR	PESO(mg)	CONCENTRACIÓN (mg/mL)	ÁREA	PROMEDIO	% RECUPERACIÓN
ST1	25.8	0.01032	162252731	160929510	
			160597588		
			160885042		
			160886352		
			160025837		
50%	25.0	0.01000	74194021	74675889.5	88.51
			75157758		
	24.3	0.00972	71092138	71193187.5	86.81
			71294237		
	25.0	0.01000	69801028	74675889.5	88.51
			70238146		
100%	25.0	0.01000	146359004	146457001	86.79
			146554997		
	24.1	0.00964	143178090	143308676	88.10
			143439261		
	25.0	0.01000	148625158	148652038	88.09
			148678917		
150%	25.0	0.01000	219477830	219389216	86.67
			219300601		
	25.0	0.01000	221822926	222104027	87.75
			222385128		
	26.0	0.01040	237021878	237232399	90.12
			237442919		

Concentración	%Recuperación	Promedio (%)	87.93 %
50%	87.94 %	Desviación estándar	1.099
100%	87.66%	DRS% <2	1.25 %
150%	88.18 %		

La recuperación al 50% fue de 87.93%, al 100% y 150% se recuperó 87.66% y 88,18% de estándar de prednisolona sodio fosfato respectivamente, dando un porcentaje de recuperación promedio de 87.93%, al ser un resultado aceptable, se demuestra que el método de muestreo recupera la mayor cantidad de trazas de prednisolona sodio fosfato, siendo un método adecuado para la obtención de la muestra. El alto porcentaje de recuperación obtenido también demuestra que el sistema analítico es exacto y puede generar los resultados de forma certera.

En el anexo N°9 se aprecia los cromatogramas de prednisolona sodio fosfato para cada concentración recuperada.

4.8. LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN

Este parámetro se calculó usando la señal de ruido que genera el blanco.

SN (blanco) = 250.02188

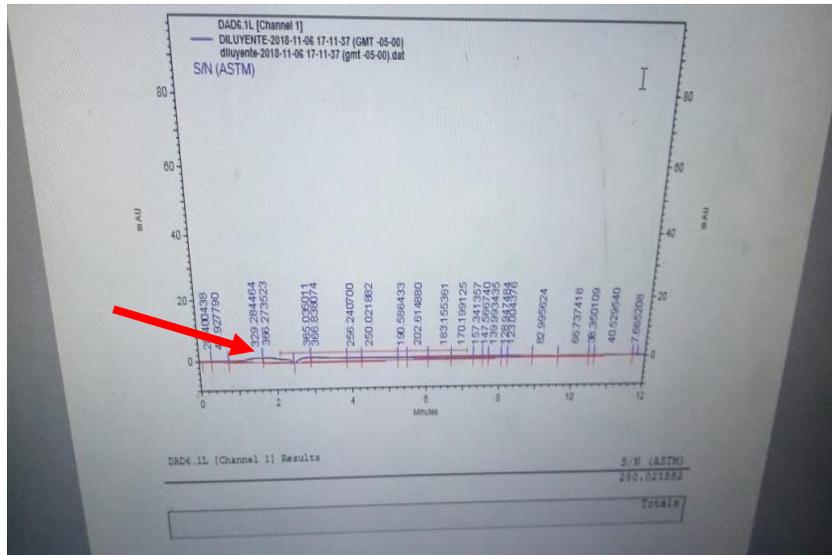


Figura N° 25. Señal de ruido del blanco

En la figura N° 25 se aprecia el Cromatograma del blanco, en el que se muestra ruido de corto alcance (perturbación de mayor frecuencia) que se da en el detector generada por la fase móvil (línea de color azul). El valor de la señal ruido que genera el blanco, es de 250.021332 dato importante para el cálculo de límites de detección y cuantificación.

En la Tabla N° 35, se expresan los resultados calculados de los límites de detección y cuantificación.

Tabla N° 35 Cálculo de los límites detección y cuantificación.

LÍMITE DE DETECCIÓN LD: 3SN/b	0.0000465ppm (µg/mL)
LÍMITE DE CUANTIFICACION LC: 10SN/b	0.00001550ppm (µg/mL)

El límite de detección del método analítico es de 0.0000465 ppm, es decir es la mínima concentración de prednisolona sodio fosfato que se puede detectar por este método, y la mínima cantidad de contaminante que se puede cuantificar mediante este método es de 0.0001550 ppm. La detección de concentraciones tan pequeñas se debe a la alta sensibilidad del equipo.

4.9. ANÁLISIS FÍSICOQUÍMICO DE TRES LOTES CONTINUOS

4.9.1. Cuantificación de trazas de prednisolona sodio fosfato por HPLC.

Después de enjuagar el equipo de fabricación (peor caso), se tomó muestras por el método del hisopado a los siete puntos elegidos, este procedimiento se realizó a tres lotes continuos. En la tabla N° 36, se aprecia los resultados que da el análisis de trazas para cada lote.

Tabla N° 36 Resultados de tres lotes analizados

PUNTOS DE MUESTREO	LÍMITE DE ACEPTACIÓN (µg/mL)	RESULTADOS (µg/mL)		
		LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
P1	10	0.00000000	0.00000000	0.00000000
P2	10	0.00000000	0.00000000	0.00000000
P3	10	0.00000000	0.00000000	0.00000000
P4	10	0.00000000	0.00000000	0.00000000
P5	10	0.12623210	0.00000000	0.00000000
P6	10	0.14524630	0.00000000	0.00000000
P7	10	0.00000000	0.2422680	0.4216600

En el primer lote analizado, se encuentra trazas de prednisolona sodio fosfato en los puntos P5 y P6 del equipo de fabricación; en el segundo y tercer lote, el punto P7 presenta trazas de contaminante. Estas cantidades halladas son menores a 10 µg/mL (10ppm), demostrándose que la limpieza de equipos de fabricación cumple con el objetivo esperado (ver anexo 1).

4.9.2. Análisis cualitativo del agua de aclaramiento (último enjuague)

A. Conductividad

Tabla N°37 Resultados de conductividad de tres lotes analizados.

MUESTRA: AGUA DE ENJUAGUE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADOS ($\mu\text{S}/\text{cm}$)	
		BLANCO (H ₂ O)	MUESTRA
LOTE 1	<1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (*)	1.0 $\mu\text{S}/\text{cm}$	1.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$
LOTE 2		0.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$	1.1 $\mu\text{S}/\text{cm}$
LOTE 3		0.9 $\mu\text{S}/\text{cm}$	1.2 $\mu\text{S}/\text{cm}$

(*) Farmacopea estadounidense USP41

El blanco es agua muestreada antes de ser llevada para enjuagar el equipo, presenta una conductividad dentro de la especificación (<1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$) en los tres lotes estudiados, así como también las muestras (agua después de hacer pasar por el equipo) presentan una conductividad menor a 1.3 $\mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$, aunque mayor al blanco, lo que indica que hay una mínima presencia de restos de detergente pero que está dentro de los parámetros indicados, y al mismo tiempo por los resultados obtenidos podemos decir que el agua antes y después de hacer pasar por el equipo presentan una conductividad que cumple con la especificación.

B. pH.

Tabla N° 38 Resultados de pH de tres lotes analizados

MUESTRA: AGUA DE ENJUAGUE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	RESULTADOS	
		BLANCO (H ₂ O)	MUESTRA
LOTE 1	5 - 7*	5.82	5.85
LOTE 2		5.71	5.80
LOTE 3		5.87	5.91

En la tabla N°38, se muestran los resultados de pH obtenidos del blanco y de la muestra para cada lote, se puede observar que la variabilidad entre los blancos y las muestras es mínima, ambos encontrándose dentro de las especificaciones que propone la USP. La permanencia del pH antes y después del enjuague, indica que la presencia de iones que pudieran

quedar en el equipo no vario drásticamente el pH, manteniéndose en el rango requerido para obtener un equipo de fabricación Limpio.

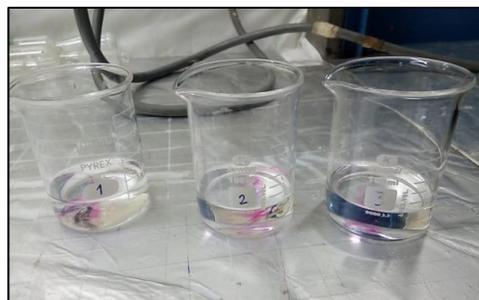
C. Análisis de sustancias oxidables

Las reacciones dadas, generaron un color rosado que se mantuvo permanente en el análisis de los tres lotes, esta prueba cualitativa explica que el agua de enjuague no presenta contaminantes orgánicos.

Flujo del análisis de sustancias oxidables



Fotografía 5. En 100mL de muestra de agua del ultimo enjuague, agregar 10 mL de H_2SO_4 2N y llevar a ebullición.



Fotografía 6. Agregar 0.2 mL de $KMnO_4$ 0,02M.



Fotografía 7. Llevar a ebullición por 5 minutos, si hay presencia de precipitado enfriar a baño de hielo hasta temperatura ambiente



Fotografía 8. La solución permanece ligeramente rosada (indicativo de ausencia de sustancias oxidables).

Tabla N°39 Resultados de análisis de sustancias oxidables de tres lotes consecutivos

Muestra	Especificación	Resultados
Lote 1	La solución se mantiene ligeramente rosada	Cumple
Lote 2		Cumple
Lote 3		Cumple

4.10. ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

En las tablas N°40 y 41, se aprecia los resultados de presencia de microorganismos en cada punto muestreado para los tres lotes analizados.

Tabla N°40 Resultados de crecimiento de bacterias

Límite de aceptación microorganismo aerobios viables (TSA)	Puntos de muestreo	Resultados (ufc/placa)		
		LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
Máximo 20ufc/25cm ²	P1	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²
	P2	2ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²	1ufc/25cm ²
	P3	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²
	P4	<1ufc/25cm ²	1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²
	P5	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²
	P6	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²
	P7	1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²	<1ufc/25cm ²

<1ufc: no hay crecimiento.

Tabla N°41 Resultados de crecimiento de levaduras y hongos.

Límite de aceptación hongos filamentosos y levaduras (ASAB)	Puntos de muestreo	Resultados (ufc/placa)		
		LOTE 1	LOTE 2	LOTE 3
Ausente	P1	Ausente	Ausente	Ausente

	P2	Ausente	Ausente	Ausente
	P3	Ausente	Ausente	Ausente
	P4	Ausente	Ausente	Ausente
	P5	Ausente	Ausente	Ausente
	P6	Ausente	Ausente	Ausente
	P7	Ausente	Ausente	Ausente

En agar tripticasa soya (TSA) para microorganismo aerobios viables, se observa que, en el primer lote, hubo crecimiento en los puntos P2 y P7 de $2\text{ufc}/\text{cm}^2$ y $1\text{ufc}/\text{cm}^2$ respectivamente, en el segundo lote, en el punto P4 de $1\text{ufc}/25\text{cm}^2$ y en el tercer lote 3 de $1\text{ufc}/25\text{cm}^2$ en el punto P2, en el resto de los puntos muestreados no hubo crecimiento alguno (ver anexo 10).

En agar sabouraud (ASAB) hay ausencia de hongos y levaduras en los 7 puntos muestreados para los tres lotes analizados estudiados.

El análisis microbiológico cumple con las especificaciones establecidas en el protocolo de validación (anexo 1) según la USP 41, ya que los recuentos de colonias en las muestras analizadas son menores a los valores establecidos, por ende, la limpieza es la adecuada y cumple con los resultados esperados. Los resultados obtenidos se pueden ver en el anexo N°10.

5. DISCUSIÓN

A partir de los resultados encontrados, se establece que los procesos de limpieza de equipos de fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica privada en

la ciudad de Lima, cumple con los parámetros de validación sugeridos por la FDA y las Buenas Prácticas de Manufactura.

Las características fisicoquímicas de Prednisolona sodio fosfato descritas en las tablas 16 y 17 conllevo a ser seleccionado como el peor caso con una DL50 de 240mg/kg oral en ratas en comparación con los otros activos (excepción de fenilefrina que posee una DL50 de 17mg/kg oral en ratas pero que por las características del mismo quedo descartado), siendo su límite de aceptación 10ppm (10ug/ml) así mismo las dificultades para limpiar los equipos determinados por el método RRF, recae en el tanque de fabricación de 400L, con siete puntos críticos de muestreo (técnica FMEA) que se detallan en la tabla N° 22, 23 Y 24.

Estos resultados guardan relación con el estudio de W. Rezquellah, quien encontró como contaminante activo a la quetiapina fumarato por su dosis letal media de 6.8 mg/kg oral en ratas, siendo su criterio de aceptación 4ug/ml, cuyo equipo seleccionado como peor caso fue una comprimidora Riva al que le tomo ocho puntos críticos de muestreo. (6)

Para esta validación, el muestreo se realizó por el método del hisopado en un área de 25cm² en superficies de acero inoxidable, al igual que el estudio de W. Rezquellah. (6)

Respecto al método por cromatografía líquida validado para cuantificación de trazas de Prednisolona sodio fosfato, en las tablas N° 27, 28, 29, 31, 32, 33, 34 y 35 se registra los resultados de los parámetros de validación: Selectividad, exactitud, precisión, linealidad del sistema, límite de detección y cuantificación cumpliendo con especificaciones que están estandarizadas por la ICH y USP para su reproducibilidad en los análisis fisicoquímicos. Siendo el coeficiente de variación menor al 2% para cada parámetro, en la tabla N° 34 se indica el porcentaje de recuperación de 87,93% obtenido, cumpliendo con lo propuesto por la FDA (>70%), este resultado es similar al obtenido por W. Rezquellah, un porcentaje de recuperación de 93% con coeficiente de variación menores al 2% para los parámetros de validación propuestos. (6)

En las tablas N° 36, 37, 38 y 39 se aprecian los resultados fisicoquímicos (trazas, conductividad, pH, sustancias oxidables respectivamente) de los tres lotes evaluados en nuestra investigación, y los resultados microbiológicos detallados en las tablas N° 40 y 41 los que cumplen con los criterios establecidos en el protocolo de validación, de manera análoga, el estudio de W. Rezquellah, para cuantificación de trazas de quetiapina fumarato por HPLC/UPLC seleccionado como peor caso dio resultados menores a 4ug/mL (4ppm), sin embargo la evaluación microbiológica, se hizo a tiempo 0 y cuatro días después de la limpieza, se determinó ausencia de microorganismos aerobios mesófilos excepto para el punto 4 en el tiempo 4, hubo crecimiento de 17ufc/laminocultivo y ausencia de hongos (0ufc/laminocultivo), sin embargo al ser un punto expuesto al ambiente y siendo un resultado después de cuatro días de limpieza, fue un resultado aceptable. El método analítico para la cuantificación de trazas de quetiapina fumarato cumplió con las especificaciones para cada parámetro de validación propuesto, demostrándose la idoneidad del método para este estudio. (6)

Del mismo modo nuestro trabajo se relaciona con la validación de limpieza que realizó Jorge Dávila (9) en la ciudad de Lima, quien se basó en la evaluación del peor caso, seleccionando Betametasona como activo contaminante por su baja solubilidad en agua y su toxicidad, se seleccionó dos equipos críticos: un mezclador Olsa y una envasadora de ungüentos IWKA, con 4 y 5 puntos críticos respectivamente para la toma de muestras por el método del hisopado. Se obtuvo resultados menores al criterio de aceptación establecido (10ppm). También realizó pruebas cualitativas para determinar presencia de detergentes, a través de la medida de pH y conductividad en el agua de enjuague, en los que obtuvo lecturas cercanas al blanco. El análisis microbiológico cumplió con las especificaciones establecidas (<10ufc/placa) para bacterias y hongos, en los lotes evaluados.

Mediante las referencias comparadas podemos afirmar que el uso de distintas técnicas y métodos para determinar el peor caso de contaminación, permiten validar los procesos de limpieza dentro de una planta farmacéutica, dando la seguridad de la eficacia de sus procesos.

Para la cuantificación de contaminante activo, existen distintos métodos, sin embargo, la FDA recomienda usar métodos de alta sensibilidad debido a que las cantidades encontradas son pequeñas, el más usado es el método de cromatografía líquida, que brinda resultados exactos y certeros. Es importante verificar la presencia de residuos de detergentes, de forma cuantitativa o cualitativa (como se realizó en este trabajo), presencia de compuestos orgánicos y de microorganismos.

Si estos factores mencionados se encuentran dentro de los límites establecidos, entonces la limpieza es adecuada y los procesos de fabricación se realizarán con seguridad.

6. CONCLUSIONES

1. Se validó los procedimientos de limpieza aplicado a equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas de administración oral de la planta farmacéutica, mediante el método de cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
2. Se elaboró el protocolo de validación de procedimientos de limpieza para equipos utilizados en la sección líquidos orales de la planta farmacéutica donde se desarrolló el presente trabajo.
3. Se estableció el peor caso para los principios activos utilizados en el área de fabricación de líquidos orales, siendo prednisolona en la presentación de 5mg/5mL establecido como el peor caso. Asimismo, se fijó los límites de aceptación en base a la toxicidad, dosis terapéutica y criterio de 10ppm para la evaluación fisicoquímica del IFA, donde el límite de aceptación de residuo es 10 µg/mL.
4. Se estableció el peor caso para los equipos utilizados en la sección de líquidos orales de la planta farmacéutica, haciendo uso del método de clasificación y filtrado de riesgo o RRF, correspondiente al tanque 1 de fabricación de 400L (E005), donde el resultado del análisis de riesgo (mayor valor) es de 8.75.
5. Se estableció los puntos críticos para la toma de muestra en el equipo tanque 01 de fabricación de 400L, seleccionado como el más crítico en la sección líquidos orales de la planta farmacéutica, aplicando herramientas de calidad como el método RRF y FMEA donde el valor NPR (numero prioritario de riesgo) del equipo es de 189.
6. Se propuso y validó el método analítico para cuantificar trazas de Prednisolona por cromatografía líquida de alta resolución, siendo efectiva para la aplicación a la metodología de validación de limpieza establecida.

7. Se cuantifico trazas de Prednisolona sodio fosfato (peor caso) dando resultados menores a 10ppm en cada punto muestreado, en el primer lote, se encontró 0,13 ppm y 0.15 ppm de contaminante en los puntos P5 y P6 respectivamente, en el segundo y tercer lote, solo en el punto P7 se halló 0.24 ppm y 0.42ppm de prednisolona sodio fosfato respectivamente, estos resultados se encuentran dentro del criterio de aceptación propuesto en el protocolo de validación (menor a 10ppm).
8. Se realizó los análisis cualitativos para residuos de detergente en los tres lotes estudiados; las lecturas de pH se encuentran en los rangos establecidos (5 a 7) y conductividad $<1,3\mu\text{S}/\text{cm}$. Los resultados de pH para los lotes 1, 2 y 3 fueron 5.85, 5.80, 5.91 respectivamente, conductividad fue de 1.2, 1.1 y $1.2\mu\text{S}/\text{cm}$ para cada lote mencionado, respectivamente. Asimismo, la prueba cualitativa aplicada para sustancia oxidables (prueba de permanganato de potasio), la solución permanece de color rosado que es indicativo de la ausencia de materia orgánica, es decir, Mn^{+7} no se reduce a Mn^{+2} .
9. Se efectuó el análisis microbiológico a los tres lotes continuos, dando resultados que están dentro de las especificaciones establecidas en el protocolo de validación de limpieza, $<20\text{UFC}/25\text{cm}^2$ para mesófilos viables y ausencia de hongos y levaduras. En crecimiento bacteriano se encontró $2\text{ufc}/\text{cm}^2$ en el punto P2 y $1\text{ufc}/25\text{cm}^2$ en el punto P7 para el lote 1, $1\text{ufc}/\text{cm}^2$ en el punto P4 para el lote 2 y $1\text{ufc}/\text{cm}^2$ en el punto P2 para el lote 3; en agar Sabouraud no hubo crecimiento de hongos ni levaduras en ningún punto de muestreo para los tres lotes analizados.
10. Se evaluó los resultados obtenidos de los análisis cuantitativos, cualitativos y microbiológicos, obteniendo resultados que demuestran que todos los puntos de muestreo estudiados son inferiores a los rangos establecidos en el protocolo de validación y se elaboró un informe técnico de validación de procesos de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales en la planta farmacéutica a partir de estos resultados.

7. SUGERENCIAS

- i. Se sugiere al área de aseguramiento de la calidad de la planta farmacéutica donde se desarrolló este trabajo, realizar el seguimiento de la validación cuando se agregue un nuevo equipo al proceso de fabricación y envase de la sección líquidos orales.
- ii. Realizar el análisis de riesgo y calcular la superficie del nuevo equipo incorporado, si este supera los límites obtenidos para el tanque 1 de fabricación de 400L se sugiere una nueva validación de limpieza estableciendo los nuevos límites. Para los nuevos IFAs incorporados a la fabricación se debe evaluar los mismos criterios mencionados en el presente trabajo, basándose en la dosis tóxica (NOEL, ADI, DL₅₀ entre otras), dosis terapéutica, dosis diaria mínima y máxima; además de realizar los nuevos cálculos de límite de aceptación. Si el límite del nuevo IFA presenta límites superiores a lo establecido hasta el momento, entonces se tendrá un nuevo peor caso y por ende el proceso de limpieza se validará nuevamente. Se sugiere realizar los pasos mencionados en el anexo 14.
- iii. Si bien es cierto que, cada industria del sector farmacéutico es independiente de realizar las validaciones de sus procesos, el presente trabajo no es universal; pero, se sugiere seguir los pasos mencionados anteriormente ya que se aplicó los análisis de riesgo que actualmente vienen siendo una novedad para este sector de la industria que, de seguro en un futuro no muy lejano, se implementara mucho más porque los procesos se encuentran en una constante evolución.
- iv. A los colegas, compañeros Antonianos, aventurarse en el sector de la industria farmacéutica, ya que este sector es multidisciplinario y juega un rol muy importante en la salud de la población.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- (1) Decreto supremo N°021-2018-SA. Manual de Buenas prácticas de manufactura de productos farmacéuticos. [en línea]. Dirección general de medicamentos, insumos y drogas 2018 [fecha de acceso 4 de octubre de 2018]. URL disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Normatividad/2018/DS-021-2018.pdf>
- (2) Benítez A. validación de procesos. Ministerio de salud, Dirección general de medicamentos, insumos y drogas (DIGEMID) [en línea]. 2018 [fecha de acceso 05 de octubre de 2018]. URL disponible en: <http://www.digemid.minsa.gob.pe/.pdf>
- (3) Food and Drug Administration (FDA) Validation of Cleaning Processes (7/93), Guide to inspections validation of cleaning processes 2018 [en línea]. 2018 [fecha de acceso 14 de octubre de 2018]. URL disponible en: <https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-guides/validation-cleaning-processes-793>
- (4) Nishihara E. Validación de limpieza [diapositiva]. Lima: Dirección general de medicamentos, insumos y drogas (DIGEMID); 2014. 129 diapositivas.
- (5) Tema 4. Cromatografía de líquidos de alta resolución [pdf]. [fecha de revisión, 18 de octubre del 2018]. Disponible en: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8248/4/T4cromatliquid.pdf>
- (6) Rezquellah W. Validación de los procesos de limpieza en la industria farmacéutica, mediante la aplicación del análisis de riesgo, seguridad toxicológica y UPLC [Tesis doctoral]. España: Universidad de Barcelona; 2015.
- (7) Morales ML. Validación del procedimiento de limpieza del proceso de manufactura de caramelos de Laboratorios ELMOR SA. [Informe para optar

el título de ingeniero Químico]. Sartenejas, Caracas: Universidad Simón Bolívar. Escuela de Ingeniería Química; 2010.

- (8) Gutiérrez JC. Validación de limpieza y sanitización de un área de envase de producción de vacunas biológicas [Tesis para optar el título de Microbióloga Agrícola y Veterinaria]. Bogotá D.C: Pontificia Universidad Javeriana. Facultad de Ciencias; mayo 2013.
- (9) Dávila JL. Validación del procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de Betametasona 0.05% crema. [Tesis de grado para optar título de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2012. [fecha de acceso 13 de noviembre de 2018]. URL disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT_3b79738a142fa676f2958558bc3b8995
- (10) Espíritu FA. Validación del proceso de limpieza del mezclador en “V” de 450kg, usado en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas. . [Tesis para optar grado académico de bachiller]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2013. [fecha de acceso 13 de noviembre de 2018]. URL disponible en: https://alicia.concytec.gob.pe/vufind/Record/UNIT_3b79738a142fa676f2958558bc3b8995
- (11) Castillo S, Rider A. Validación del procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de tabletas de liberación prolongada - Cefaclor 500mg. [Tesis de grado para optar título de Químico Farmacéutico]. Trujillo: Universidad Nacional de Trujillo; 2012. [fecha de acceso 18 de noviembre de 2018]. URL disponible en: <http://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/1853/Castillo%20Salirrosas%2c%20Rider%20Antonio.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- (12) DIBOSCH. Como evitar la contaminación en la industria farmacéutica. [en línea]. Artículo publicado en junio del 2018. [fecha de acceso 20 de noviembre de 2018]. URL Disponible en:

<https://www.dibosch.com/blog/es/como-evitar-la-contaminacion-cruzada-en-la-industria-farmaceutica/>

- (13) Gobierno de Aragón. Taller de lavado. [en línea]. Artículo publicado en España; 2010. [fecha de acceso 03 de noviembre de 2018]. Disponible en [http:// www.aragon.es](http://www.aragon.es)
- (14) Bailly M. Strategie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique [tesis doctoral] Francia, mayo, 2004. [revisado 25 noviembre] Disponible en:

<https://blogsdm.files.wordpress.com/2009/11/these-validation.pdf>
- (15) CUBEN. Equipos de limpieza CIP. [internet]. Buenos Aires: [fecha de acceso 27 de noviembre de 2018]. URL disponible en: https://www.cuben.com.ar/catalogos/01_ARTICULO_TECNICO_CIP_CUBEN.pdf
- (16) Olvea S. Limpieza de instalaciones y equipamientos industriales. 2^a Edición [en línea]. Antequera (Málaga); IC Editorial. 2017. [fecha de acceso 27 de noviembre de 2018]. URL disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=Tz01DwAAQBAJ&dq=Limpieza+de+instalaciones+y+equipamientos+industriales&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjb1vau2KijAhWQjFkKHTvNBJoQ6wEIKDAA>
- (17) Lenntech Limpieza en procesos CIP [en línea] [visto 28 noviembre], disponible en: <https://www.lenntech.com/cleaning-cip.htm>
- (18) CUBEN. Estación de lavado COP. [internet]. Buenos Aires: [fecha de acceso 3 de diciembre de 2018]. URL disponible en: https://www.cuben.com.ar/catalogos/02_EQUIPO_COP.pdf
- (19) Fagor Industrial. Factores que intervienen en la limpieza: El Circulo de Sinner. [internet] enero 2014, [fecha de acceso, 5 de diciembre de 2018]. URL disponible en: <http://blog.fagorindustrial.com/?p=2320>

- (20) EMONA S.R.L. La limpieza perfecta: El Circulo de Sinner. [internet] abril 2018, [fecha de acceso, 8 de diciembre de 2018]. URL disponible en: www.emona.com.ar/la-limpieza-perfecta-el-circulo-de-sinner/
- (21) López F, Sosa A y Col. Modelo educativo para el estudio toxicológico de productos de limpieza de uso comercial. [revista mexicana]. México, 2015. [fecha de acceso, 8 de diciembre de 2018]. Disponible en: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-01952015000100033
- (22) Publicaciones Vértice S.L. Manipulación de productos químicos y de limpieza, [manual] Málaga, España, editorial Vértice 2011. [revisado el 12 de diciembre del 2018] Disponible en: https://books.google.com.pe/books?id=Umm8f1HB8jEC&printsec=frontcover&dq=agentes%20de%20limpieza%20y%20desinfeccion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjMiqeH76rjAhUGvVkKHXSBdUQ6AEIOTAD&fbclid=IwAR2e0VkrT6FANEPP43WcDnkGng_JR-CTFB1nDjYVbM3ItNZZDeat91VU8c#v=onepage&q&f=true
- (23) Galindo C. Requisitos generales de higiene: limpieza y desinfección [diapositiva en línea]. Murcia: Dirección general de salud pública; mayo, 2015. 60 diapositivas.
- (24) Dirección de Salud Pública. Limpieza y desinfección de equipos y superficies ambientales en instituciones prestadoras de servicios de salud [Internet]; Bogotá. setiembre 2011. [consultado el 15 de diciembre del 2018]. Disponible-en: <http://www.saludcapital.gov.co/sitios/VigilanciaSaludPublica/Todo%20IIH/Limpieza%20y%20Desinfecci%C3%B3n%20de%20Equipos%20y%20Superficies.pdf>
- (25) Pérez D, Vera A. Revisión y actualización del programa de limpieza y desinfección de Anglopharma S.A [tesis], Bogotá, diciembre, 2008. [Revisado 17 de diciembre] Disponible en: <https://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis205.pdf>

- (26) Norma ISO 14644-1: 2015, ICH. Clasificación de Salas blancas. [en línea]. Segunda edición. diciembre 2015.[Revisado 19 de diciembre del 2018] disponible en: <http://ingelyt.com/clasificaciones-salas-blancas-iso-14644/>.
- (27) Clasificación de las salas blancas, grupo europeo de ingeniería agroalimentaria y ambiental. [pdf] [revisado el 22 de diciembre del 2018]. Disponible en: www.gei-2a.com/rcs/GEI-2A_clasificacion_salas_blancas.pdf
- (28) Guía de Normas de correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. [en línea] Anexo I, Madrid, Marzo, 2010. [Revisado el 23 de diciembre del 2018] Disponible en: <https://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/home.htm#anexos>
- (29) Castro M., Gascón S., Pujol M., Sans J., Vicente L. Validación de métodos analíticos. [libro] comisión de normas de buena fabricación y control de calidad, Farma International Books.
- (30) León E, Medrano JL. Validación de procesos en la industria farmacéutica [en línea]. Lima: Dirección general de medicamentos, insumos y drogas; noviembre 2017. [revisado el 27 de diciembre del 2018]. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimientos/Reuniones/Reunion_Tecnica/IV_Validaci%C3%B3n_de_Procesos.pdf
- (31) Quinte CR. Calificación y Validación [en línea]. Lima: Dirección general de medicamentos, insumos y drogas (DIGEMID), Ministerio de salud del Perú; [revisado el 27 de diciembre del 2018]. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimientos/Reuniones/Reunion_I/I_Calificacion_Validacion.pdf
- (32) Chaloner G, Ph. D, GCL, y col. “Guía de la OMS sobre los requisitos de las practicas adecuadas de fabricación (PAF) segunda parte: validación” [pdf] Organización Mundial de la Salud Ginebra, 1998. whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_VSQ_97.02_spa.pdf

- (33) Ríos MS., Badilla C. Validación de procesos. [en línea]. Instituto de salud pública de Chile; artículo publicado en 2012 [revisado el 27 de diciembre del 2018]. Disponible en: <https://studylib.es/doc/5047193/validaci%C3%B3n-de-procesos-productivos>
- (34) Farmacopea de los Estados Unidos USP 41, Formulario nacional 36, volumen 1 “validación de procedimientos farmacopeicos”, capítulo <1225>, Estados Unidos 2018.
- (35) International Conference on Harmonised, ICH Q7. Tripartite Guideline. Good Manufacturing Practice Guide for active pharmaceutical ingredients. [en línea]. 2000 noviembre 10. [fecha de revisión, 28 de diciembre del 2018]. URL disponible en: https://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q7/Step4/Q7_Guideline.pdf
- (36) López M, Pierre RA Establecimiento del límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción de la industria farmacéutica, [en línea]. Revista Cubana de Farmacia V.39, Ciudad de la Habana, Sep-dic.2005. [fecha de revisión, 29 de diciembre del 2018]. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300010#cargo
- (37) Douglas S. Donald W y Holler Fj. Fundamentos de química analítica [libro] 4° Edición, Barcelona, editorial Reverte S.A. abril,2001. [revisado el 29 de diciembre del 2018] Disponible en: <https://books.google.com.pe/books?id=CU7yWvK1kGQC&pg=PA709&dq=cromatografia+liquida+de+alta+resolucion&hl=es&sa=X&ved=0ahUKEwjGgOTEu8vjAhVG2FkKHQn2Ac0Q6AEIMjAC#v=onepage&q=cromatografia%20liquida%20de%20alta%20resolucion&f=true>
- (38) Cerra H, Fernández MC, Horak C, Lagomarsino M, Torno G, Zarankin E. Manual de microbiología aplicada a las industria farmacéutica, cosmética y productos médicos. [pdf], Argentina [Revisado 15 de diciembre

del 2018) Disponible en: <https://www.aam.org.ar/descarga-archivos/manual-microbiologia-aplicada.pdf>

- (39) Laboratorio Britania, Sabouraud glucosado agar [pdf] Caba, Argentina, noviembre, 2015. [Revisado el 15 de diciembre del 2018] Disponible en: https://www.britanialab.com/back/public/upload/productos/upl_5a2971216486e.pdf
- (40) Industria Nacional de microbiología S.A.S Agar tripticasa de soya [pdf].Disponible en: http://www.indemicsas.com/insertos/ficha_agar_triplicasa_de_soya.pdf
- (41) Hernández R, Fernández C, Baptista MP, Métodos de investigación científica y tecnológica. [libro en línea]. sexta Edición, México, 2014. [Revisado el 30 de diciembre del 2018]. Disponible en: observatorio.epacartagena.gov.co/.../metodologia-de-la-investigacion-sexta-edicion.com.
- (42) Validación de métodos analíticos, Buenas prácticas para laboratorios nacionales de control farmacéutico [pdf] Anexo 3, informe 36,2002. [Revisado el 30 de diciembre 2018]Disponible en: www1.paho.org/hq/.../2008/13_Modulo_VALIDACION_de_Metodos_Fisicoqcos.pdf
- (43) Gosselin S. and Hodge Clinical Toxicology of comercial products. [libro] 5ta Edición, Baltimore, Maryland,1984.
- (44) International Conference on Harmonised, ICH Q9 on Quality Risk Management. [en línea]. Septiembre 2015. [Revisado 31 diciembre del 2018] Disponible en: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q9-quality-risk-management>
- (45) Tema 1. Introducción a las técnicas instrumentales en el análisis industrial. [revisado 31 de diciembre] Disponible en: <https://rua.ua.es/dspace/bitstream/10045/8245/8/T1metodos%20instrumen.pdf>

- (46) Barra A. Estudio de las necesidades y propuestas para la obtención de condiciones para llevar a cabo la validación de limpieza del área de Betalactámicos, [tesis], Valdivia, Chile, 2012. [Revisado 12 de diciembre del 2018] Disponible en: <http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fcb2681e/doc/fcb2681e.pdf>
- (47) Ecured Agente quelante [Revisado 15 de diciembre del 2018] Disponible en: https://www.ecured.cu/Agente_quelante
- (48) JC Tensoactivos [Revisado 15 de diciembre] Disponible en: <http://depa.fquim.unam.mx/fina/presenta/tensoactivos.pdf>

ANEXOS

ANEXO N° 1 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL PROCESO DE LIMPIEZA DE EQUIPOS DE LA SECCIÓN LÍQUIDOS ORALES

Laboratorio	Página: de Protocolo N°: Versión: Vigencia:
PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DEL PROCESO DE LIMPIEZA DE EQUIPOS DE LA SECCIÓN LIQUIDOS ORALES	

1. MATRIZ DE APROBACIONES

REALIZADO POR			
NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Bach.	Responsable:		
REVISADO POR			
NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Q.F.	Jefe de Aseguramiento de la Calidad		
Q.F.	Jefe de Producción		
Q.F.	Jefe de Control de Calidad		
APROBADO POR			
NOMBRE	CARGO	FIRMA	FECHA
Q.F.	Director Técnico		

2. OBJETIVO

Obtención de pruebas documentadas que demuestren con un alto grado de seguridad, que la limpieza realizada siguiendo el procedimiento de limpieza IN. LIM004.r de limpieza de tanques de acero inoxidable, es eficaz y garantiza la eliminación de trazas (ingrediente activo, excipientes, agentes de limpieza) hasta límites establecidos en el criterio de aceptación.

Este ejercicio no es aplicable a la limpieza para operaciones no rutinarias tales como derrames o rupturas durante la fabricación.

3. ALCANCE

Este protocolo es de aplicación al procedimiento de limpieza de equipos de la sección líquidos orales del área de producción.

La validación de limpieza implica la comprobación luego de 3 limpiezas consecutivas.

4. ETAPA DEL PROCESO

Limpieza del tanque de acero inoxidable de 400L.

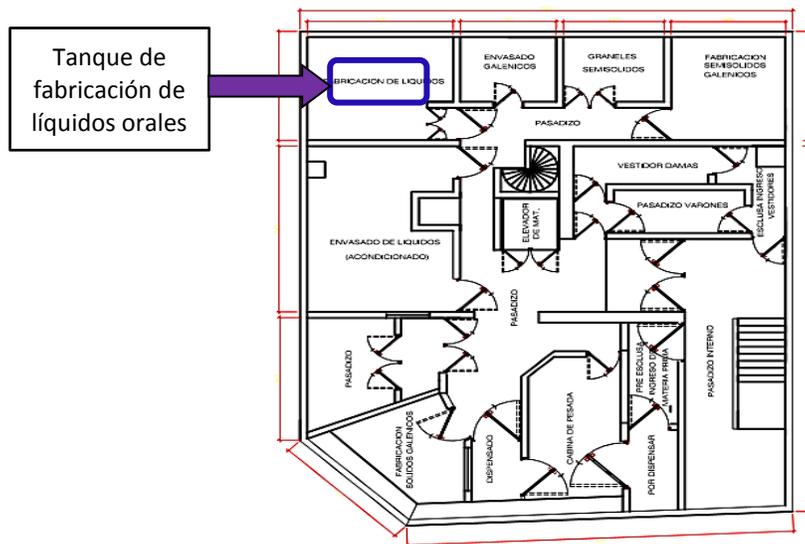
5. RESPONSABILIDADES

- **Analista de Validaciones:** Responsable de la realización de la validación del método analítico y de procesos de limpieza, así como la elaboración del Protocolo e Informe de Validación.
- **Jefe de Control de Calidad:** Responsable de la Supervisión y Revisión del Protocolo e Informe de Validación.
- **Jefe de Producción:** Responsable de la Supervisión de los procesos de fabricación y limpieza de equipos.
- **Jefe de Aseguramiento de la Calidad:** Responsable de la Revisión del Protocolo e Informe de Validación.
- **Director Técnico:** Responsable de la Aprobación del Protocolo e informe de la Validación.

6. UBICACIÓN DEL EQUIPO

Área de fabricación de líquidos orales.

Croquis de ubicación del equipo “peor caso”



7. DESCRIPCIÓN DEL PROCESO

7.1. Descripción del Procedimiento de Limpieza

Proceso	Verificado por:	Fecha	Supervisado por:
1. Iniciar la limpieza con 8L de agua potable, eliminando el producto procesado por la válvula de descarga.			
2. Lavar con 5L de solución detergente al 2%, restregar toda la superficie interna con un escobillón, eliminando los residuos adheridos a la superficie.			
3. Con un paño sumergido en solución detergente al 2% restregar la superficie externa.			
4. Enjuagar con 8L de agua potable la parte interna y externa del tanque hasta eliminar todo rastro de solución detergente, eliminando por la válvula de descarga. Realizar esta operación por triplicado.			

5. Realizar el enjuague con 5L de agua purificada iniciando por la parte interna y luego la parte externa. Realizar esta operación por triplicado.			
6. Sanitizar con 200mL de alcohol etílico al 70%			
7. En cuanto a la tapa, Eliminar los residuos de producto con 5L de agua potable.			
8. Restregar con un paño con 1L de solución detergente.			
9. Realizar el enjuague con 3L de agua potable. Repetir esta operación por duplicado.			
10. Realizar el enjuague con 1L de agua purificada. Repetir esta operación por duplicado			
11. Sanitizar con 100mL de alcohol etílico al 70%.			
12. Para la limpieza de la válvula de salida hacer pasar mediante el mismo 8L de agua potable para eliminar restos de producto.			
13. restregar con un paño con 1L de solución detergente al 2%.			
14. Enjuagar con 8L de agua potable hasta eliminar rastros de detergente. Repetir esta operación por duplicado.			
15. Enjuagar con 4L de agua purificada. Repetir esta operación por duplicado.			
16. Sanitizar con 100mL de alcohol etílico al 70%.			

7.2. Calificación del ambiente

Los límites establecidos para la limpieza microbiológica se basan en las recomendaciones de limpieza dadas por la Comunidad Europea para superficies en ambientes limpios tomando muestra con hisopo estéril.

Clase: 100 000 Grado D

Acceso: Restringido

Característica	Límites de aceptación	Resultado
Presión deferencial positiva	≥ 0.05 pulg. de agua	
Temperatura ambiental	$\leq 30^{\circ}\text{C}$	
Humedad	$< 80\%$	

7.3. Verificación de la calificación del equipo

Verificar que los equipos objeto de la calificación de limpieza se encuentren calificados, así como la integridad de la superficie de contacto con el producto.

Características del equipo:

Características	Resultado	Fecha	Realizado por	Supervisado por

Equipo: Tanque de acero inoxidable de 400L Código: E005 Marca: N.A. Modelo: N.A. Material: Acero inoxidable 316-L Superficie de contacto: 26542.6447cm ² . Fecha de calificación:				
-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--

7.4. Calibración de equipos e instrumentos

Verificar que los instrumentos de Control de Calidad utilizados en la validación de limpieza, se encuentren calibrados y encontrarse dentro del periodo de vigencia, demostrados en sus certificados de calibración y calificación.

Instrumento	Resultado	Fecha	Realizado por:	Supervisado por:
Equipo: HPLC Marca: AZURA-DAD KNAUER Fecha de calibración: Próxima calibración: N° de certificado:				
Instrumento: Potenciómetro Marca: THERMO ELECTRON Modelo: ORION 3 STAR. Fecha de calibración: Próxima calibración: N° de certificado:				
Instrumento: Conductímetro Marca: WTW Modelo: Cond 330i Fecha de calibración: Próxima calibración: N° de certificado:				
Equipo: Cocinilla eléctrica Marca: N.A.				
Instrumento: Balanza Marca: METTLER TOLEDO. Modelo: AB204-S Fecha de calibración: N° de certificado:				

7.5. Agente de limpieza

Características	Resultado	Fecha	Realizado por:	Supervisado por:
Producto: Detergente industrial. Componente activo: Alquil Aril Sulfonato de Sodio (15-16%). Composición: Tripolifosfato sodio (10-13%), Carbonato de Sodio (8-12.5%), Poliacrilato de sodio (1-2%), Fragancia (0.1-0.15%). Modo de empleo: Concentración de uso: Solución al 2%				

Condiciones de almacenamiento: Almacenamiento del producto en ambiente fresco y ventilado.				
-----------------------------------------------------------------------------------------------	--	--	--	--

7.6. Agua purificada

Utilizada como agua de enjuague para los equipos.

Pruebas	Resultado	Fecha	Realizado por:	Supervisado por:
pH: 5.0 – 7.0 Sustancias oxidables: Ausencia Conductividad: ≤ 1.30µS/cm				

7.7. Personal

Calificado en los procedimientos de limpieza.

7.8. Métodos de muestreo

Pruebas	Resultado	Fecha	Realizado por:	Supervisado por:
Análisis fisicoquímico: Método del Hisopo. Área hisopada: 25 cm ² . Volumen del solvente: 5 mL. Solvente: Agua purificada.				
Análisis microbiológico: Método del Hisopo. Área hisopada: 25 cm ² . Volumen del solvente: 5 mL. Solvente: agua purificada				

8. ESTUDIOS PARA LA VALIDACIÓN

8.1. Selección del contaminante:

La selección del contaminante se realiza de acuerdo a la solubilidad, toxicidad y dosis terapéutica mínima diaria y para este caso, se ha tomado una selección en función a la mayor puntuación resultándonos el peor caso a validar.

Para elegir el contaminante:

- Se suman los valores asignados y se toma el producto que tiene el mayor valor.

Luego de determinar el producto contaminante, se determinará el límite de limpieza para el equipo seleccionado como el peor caso (tanque de fabricación 1 de 400L) por el método de *Risk Ranking and Filterinng*.

8.2. Determinación del límite de aceptación:

Los límites de aceptación se determinan aplicando los siguientes métodos.

Método	Ecuación	Resultado	Realizado por:
Dosis terapéutica del contaminante	$LAR = \frac{DTminA(mg) \times FS \times TLprodB (g) \times ASM(cm^2)}{DDmaxB(g) \times SE (cm^2) \times V (mL)} \times 1000\mu g$		

Toxicidad del residuo	$LAR = \frac{DL_{50} \times FS \times 0.0005 \times 70 \times TLprodB}{SE \times DDmaxB} \times \frac{ASM}{V} \times 1000 \frac{\mu g}{mg}$		
Criterio organoléptico	4 - 20 µg/mL.		
10 ppm	--		

Donde:

- LAR: Límite de aceptación del contaminante por superficie de muestreo.
- DTminA: Dosis mínima con efecto terapéutico en mg del contaminante del producto A.
- TLprodB: Menor tamaño de lote del producto B
- ASM: Área superficial de muestreo por hisopado
- DDmaxB: Mayor dosis diaria del producto B
- SE: Superficie de contacto del equipo (cm²)
- V: Volumen del solvente empleado para el hisopado (mL)
- FS: Factor de seguridad establecido para productos orales.
- DL₅₀: Dosis letal 50.

Se considera el menor limite hallado de los métodos mencionado.

8.3. Criterios para el cálculo de los límites de aceptación

El límite de aceptación se realizará para el método del hisopado, el cual es el método con el que se tomaran todas y cada una de las muestras. Se considera las siguientes características:

Características	Resultado	Fecha	Realizado por:	Supervisado por:
<ul style="list-style-type: none"> ▪ Área de muestreo: 25cm². ▪ Dilución de la muestra: 5mL. ▪ Porcentaje de recuperación del activo: ▪ Dosis terapéutica mín. del ingrediente activo: 5mg ▪ Dosis diaria mayor del producto B: 1600mg ▪ Superficie de contacto del equipo: 26542.6447 cm². ▪ DL₅₀ del ingrediente activo: 240mg/kg (oral, ratas). ▪ Factor de seguridad para productos orales: 0.001 				

8.4. Análisis de detergente.

Proceso	Resultado	Fecha	Realizado por:	Supervisado por:
<p>Muestreo: Se tomará muestra de agua del ultimo enjuague del equipo seleccionado para esta prueba.</p> <p>Límite de aceptación: La conductividad y pH del agua de enjuague debe ser igual o similar al agua purificada antes de pasar por el equipo. La prueba para sustancias oxidables debe ser negativo.</p>				

9. PUNTOS DE MUESTREO

PUNTO 1: Borde o boca del equipo.

PUNTO 2: Pared interna superior.

PUNTO 3: Pared interna media.

PUNTO 4: Pared interna inferior.

PUNTO 5: Base interna.

PUNTO 6: Tubo de descarga interna.

PUNTO 7: Válvula de descarga.

10. VALIDACION DEL METODO ANALITICO PARA DETERMINAR TRAZAS DE PREDNISOLONA SODIO FOSFATO

10.1. Fundamento teórico del método y la referencia del mismo.

Se adoptó del capítulo de la USP 40 capítulo <1225>

10.2. Relación de los parámetros a evaluar durante la validación.

Según el Procedimiento de Validación de Métodos Analíticos CC-016., los parámetros a desarrollar en la presente validación son: Selectividad, Linealidad del Sistema, Precisión, Exactitud, límite de detección y límite de cuantificación.

10.3. Diseño experimental y criterios de aceptación por parámetros.

Los desarrollará en condiciones normales de trabajo a temperatura ambiente.

A. Selectividad:

Es el parámetro que nos permite evaluar de manera inequívoca el principio activo en estudio, en presencia de otros componentes que podrían estar presentes en la muestra, evidenciando así que no existan interferencias.

En este estudio analizaremos:

1. Diluyente (Fase Móvil),
2. Principio activo puro de Prednisolona sodio fosfato al 100%
3. Principio activo al 100% + estrés,
 - FM + PA (Luz)
 - FM + PA (Calor Seco).
 - FM + PA (Calor Húmedo).
 - FM + PA (Hidrólisis ácida con ácido clorhídrico a 1N).
 - FM + PA (Hidrólisis alcalina con Hidróxido de Sodio a 1N).
 - FM + PA (Hidrólisis Oxidación con peróxido de 3 % v/v)

Preparación de soluciones de trabajo.

1. Preparación de diluyente: Preparar según técnica analítica, prepara el diluyente por duplicado y correr al HPLC.

Preparar por Duplicado.

2. Estándar de prednisolona sodio fosfato al 100%

Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o has completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un

filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC

Concentración; 0,01 mg/mL de Ivermectina.

Preparar por Duplicado.

3. Preparación de principio activo puro de prednisolona sodio fosfato

Preparar por duplicado y de la misma forma que el estándar de la valoración y correr al HPLC.

Concentración; 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato.

Preparar por Duplicado.

4. Preparación del estándar de prednisolona sodio al 100% + estrés.

Fase Móvil + PAs (Luz):

Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato previamente sometido a la luz al menos por 48 horas y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o hasta completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración: 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato

Preparar por Duplicado.

Fase Móvil + PAs (Calor seco 105°C x 48 horas / Preparar por Duplicado): Con el estándar previamente secado en la estufa a 105°C por 48 horas, preparar el estándar al 100%

Concentración: 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato

Preparar por Duplicado.

Fase Móvil + PAs (Calor Húmedo 60°C x 2 horas / Preparar por Duplicado): Pesar aproximadamente 25 mg de Prednisolona sodio Fosfato, llevar a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 30 mL de fase móvil, llevar al ultrasonido por 10 minutos o hasta completa disolución, **llevar a baño maría a 60°C por 2 horas, transcurrido el tiempo enfriar la solución** enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0mL de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml, aforar con fase móvil y homogenizar. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración: 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato

Preparar por Duplicado.

Fase Móvil + PA (hidrólisis ácida con Ácido Clorhídrico a 1N): Pesar aproximadamente 25 mg de Prednisolona Sodio Fosfato, llevar a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 30 mL de fase móvil, llevar al ultrasonido por 10 minutos o hasta completa disolución, agregar **1,0 mL de Ácido Clorhídrico 1N, llevar a baño maría a 60°C por 2 horas, transcurrido el tiempo enfriar la solución y luego neutralizar la solución con 1,0 mL de Hidróxido de Sodio 1N respectivamente**, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml, enrasar con fase móvil y homogenizar Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración: 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato

Preparar por Duplicado.

Fase móvil + PA (hidrólisis Básica con Hidróxido de Sodio 1N): Pesar aproximadamente 25 mg de Prednisolona Sodio Fosfato, llevar a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 30 mL de fase móvil, llevar al ultrasonido por 10 minutos o hasta completa disolución del estándar, agregar **1,0 mL de Hidróxido de Sodio 1N, llevar a baño maría a 60°C por 2 horas, transcurrido el tiempo enfriar la solución y luego neutralizar la solución con 1,0 mL de Ácido Clorhídrico 1N respectivamente** enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un

matraz volumétrico de 50ml, enrasar con fase móvil y homogenizar. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración: 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato

Preparar por Duplicado.

Fase móvil + PA (Oxidación con Peróxido de Hidrogeno 3 % v/v): Pesar aproximadamente 25 mg de Prednisolona Sodio Fosfato, llevar a un matraz volumétrico de 100 mL, agregar 60 mL de fase móvil, llevar al ultrasonido hasta completa disolución, agregar **2,0 mL de Peróxido de Hidrogeno al 3% v/v y llevar a baño maría a 60°C por 2 horas, transcurrido el tiempo enfriar la solución y luego**, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml, enrasar con fase móvil y homogenizar. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración: 0.01 mg/mL de Prednisolona Sodio Fosfato

Preparar por Duplicado.

Asimismo, para verificar que no existen interferencias en el diluyente y la identificación del principio activo se lleva el diluyente que es la misma fase móvil a las mismas condiciones de estrés.

Sustancia (Preparación por Duplicado)	Condiciones
Fase móvil	0,0 mL
Fase móvil a calor seco	105 °C x 48horas
Fase móvil a luz	x 48 horas
Fase móvil a calor húmedo	60°C x 2 horas (baño maría)
Fase móvil a hidrolisis acida	+ 1ml de HCL 1N
Fase móvil a hidrolisis básica	+ 1mL DE NAOH 1N
Fase móvil a hidrolisis oxidativa	+1mL DE H2O2 al 3%

B. Linealidad:

Este parámetro evalúa la capacidad del método para generar resultados linealmente proporcionales a la concentración del principio activo dentro de un intervalo determinado. Se mide el coeficiente de correlación, el coeficiente de variación de respuesta y se evalúa el cumplimiento de los Test de Linealidad y el Test de Proporcionalidad.

Se desarrolla y evalúa 1 tipo de Linealidad (Linealidad del Sistema con Estándares).

➤ **Linealidad del Sistema:**

Evalúa la capacidad del método de obtener resultados linealmente proporcionales a la concentración del principio activo, utilizando Estándar de Prednisolona Sodio Fosfato. Se preparan muestras pesadas independientemente para obtener 5 Niveles de concentración del principio activo, las cuales son: 50%, 75%, 100% 125% y 150%. Las cantidades a pesar son respectivamente en un mismo matraz volumétrico para cada rango de concentración por triplicado y proceder según técnica analítica propuesta:

Rango de Concentración	mg del Estándar de Prednisolona Sodio Fosfato	Preparación	Inyecciones
------------------------	-----------------------------------------------	-------------	-------------

Estándar 1- 50%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 2.0ml en un matraz volumétrico de 100ml.	TRIPLICADO	2
Estándar 2- 75%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 3.0ml en un matraz volumétrico de 100ml.	TRIPLICADO	2
Estándar 3-100%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 2.0ml en un matraz volumétrico de 50ml.	TRIPLICADO	2
Estándar 4-125%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 5.0ml en un matraz volumétrico de 100ml.	TRIPLICADO	2
Estándar 5-150%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 3.0ml en un matraz volumétrico de 50ml.	TRIPLICADO	2

Preparación de 5 niveles de concentraciones: Preparar cada nivel de concentración por **triplicado** y de acuerdo a la técnica y leer al espectrofotómetro por duplicado cada uno de las 15 muestras.

C. Precisión:

Este parámetro nos permite evaluar el grado de dispersión entre los resultados analíticos individuales de un análisis, cuando se aplica el procedimiento repetidamente a diferentes muestreos de una muestra homogénea.

Se considera en número de inyecciones como mínimo los siguientes estándares

Estándar 1: 3 Inyecciones

Estándar 2: 3 Inyecciones

- **Precisión del sistema o repetibilidad instrumental**

Se trabaja con 10 soluciones de estándar al 100%.

Se preparan 10 soluciones de solución estándar a la concentración de trabajo de 100%. Se prepara según técnica analítica propuesta y se inyecta por 2 inyecciones.

Se evalúa el Coeficiente de Variación al conjunto de datos, Tiempo de retención y Áreas.

Las cantidades a pesar son respectivamente:

Concentración	mg del Estándar de Prednisolona sodio fosfato al 100%
Estándar al 100%	25mg de Prednisolona sodio fosfato.

- **Precisión Intermedia:** Es la medida de la dispersión de resultados dentro del Laboratorio, se realizará con la participación de:

- ❖ Analista 1

- ❖ Analista 2

Los cuales trabajarán en días diferentes. Evalúa entonces la dispersión de resultados de 2 analistas que trabajan con los mismos estándares al 100% pero en días diferentes.

DIA 1: ANALISTA 1

Concentración	mg del Estándar de Prednisolona sodio Fosfato
Estándar 100%-1	Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o hasta completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de

	membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.
Estándar al 100%-2	Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o has completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración	25 mg del Estándar de Prednisolona Sodio Fosfato + fase móvil
Estándar al 100% 10 muestras	Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o has completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

DIA 2: ANALISTA 2

Concentración	mg del Estándar de IVERMECTINA
Estándar al 100%-1	Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o has completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.
Estándar al 100%-2	Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o has completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Concentración	18 mg del Estándar de IVERMECTINA + 3,0 mL Placebo
Estándar al 100% 10 muestras	Pesar 25mg de estándar secundario de Prednisolona sodio Fosfato y llevar a un matraz volumétrico de 100 mL disolver con 30 mL de fase móvil, someter a ultrasonido por 10 minutos o has completa disolución del estándar, enrasar con fase móvil y homogenizar. Transferir 2.0ml de esta solución a un matraz volumétrico de 50ml. Filtrar una porción de esta solución a través de un filtro de membrana de 0,22 µm de nylon, descartando los primeros mL del filtrado, colocarlos en viales y correr al HPLC.

Al conjunto de resultados, se evalúa el Coeficiente de Variación.

D. Exactitud

Este parámetro evalúa la cercanía entre el valor teórico y el valor encontrado (porcentaje de recuperación).

Se analiza con los 3 niveles de concentraciones realizadas en la prueba de linealidad del método con respecto al estándar preparado por duplicado según técnica analítica y leer por triplicado.

Se preparan soluciones estándar los 3 niveles de concentraciones de: 50%, 100% y 150%. Siendo el 100 % una concentración de 0.01 mg/mL de Prednisolona sodio fosfato. Una vez preparada las soluciones estándar, con una pipeta volumétrica de 1ml se transfiere cada solución a un área plana de 25cm² que represente a superficie hisopada del equipo más crítico, dejar evaporar el solvente completamente, recuperar las muestras por el método de hisopado en un volumen de 5ml, sonicar por 15 minutos, filtrar por una membrana de 0.22um de nylon y llevar al HPLC para su lectura.

Cada nivel de concentración se analiza por triplicado y se evalúa el resultado de las 9 muestras (2 inyecciones por cada muestra como mínimo).

Se calcula los mg/mL del principio activo obtenido, determinando el Porcentaje de Recuperación Media, desviación estándar y coeficiente de variación de los datos.

Proceder según la técnica analítica propuesta

Las cantidades a pesar son respectivamente, según la linealidad del método:

Rango de concentración	mg del Estándar de Prednisolona sodio fosfato	Preparación de la muestra	Numero de inyecciones
Estándar 1 50%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 2.0mL en un matraz volumétrico de 100mL.	triplicado	2
Estándar 2 100%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 2.0ml en un matraz volumétrico de 50mL.	triplicado	2
Estándar 3 150%	25 mg en un matraz volumétrico de 100 mL, transferir, 3.0mL en un matraz volumétrico de 50mL.	Triplicado	2

E. Límite de detección y cuantificación

Con la señal ruido (S/N) que genera el blanco se determina los límites de detección y cuantificación, aplicando las siguientes formulas:

LÍMITE DE DETECCIÓN: $LD=3SN /b$

LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN: $LC=10SN /b$

11. ANÁLISIS ESTADÍSTICO A SER UTILIZADO PARA EL PROCESAMIENTO DE RESULTADOS.

PARÁMETRO	ESPECIFICACIÓN
APTITUD DEL SISTEMA	No debe presentar más del 2,0% en la desviación estándar relativa (DSR%) entre las 5 inyecciones sucesivas del estándar, con respecto al área y el tiempo de retención.

SELECTIVIDAD	No debe presentar interferencias en la misma longitud de onda del diluyente y los excipientes de la matriz del producto. Así como debe ser estable La Prednisolona sodio fosfato en sus diferentes condiciones de estrés en no menos del 70% de lo declarado.
LINEALIDAD DEL SISTEMA	Coeficiente de correlación : Mayor ó igual que 0,999 Se determina la ecuación de la recta de regresión : $y = bx + a$ Se establece el valor de : $b =$ Pendiente y $a =$ Intercepto. <u>Test de Linealidad</u> Coeficiente de Variación de los Factores de Respuesta: Máximo 2.0% "t" de Student experimental mayor al "t" de tablas <u>Test de Proporcionalidad</u> "t" de Student experimental menor al "t" de tablas
PRECISIÓN	<u>Precisión del Sistema ó Repetibilidad Instrumental:</u> Coeficiente de Variación (CV) : Máximo 2,0% <u>Precisión Intermedia:</u> Coeficiente de Variación (CV) : Máximo 2.0%
EXACTITUD	<u>Porcentaje de Recuperación Media</u> : 70,0 - 150% Coeficiente de Variación (CV) : Máximo 2.0%

12. ETAPA EXPERIMENTAL Y OBTENCION DE DATOS

La limpieza del equipo, muestreo y los resultados de los análisis se muestran en los cuadros siguientes cuadros adjuntos:

12.1. PRIMER CICLO DE LIMPIEZA

A. Inspección visual.

La inspección visual se realiza antes de realizado el hisopado e incluye visualizar las zonas interna y externa del equipo asegurándose que no exista presencia de restos de producto o materiales utilizados durante el procedimiento de limpieza.

Inspección visual: CONFORME NO CONFORME

Comentarios:

.....
.....
.....

B. Análisis Físicoquímico.

Producto limpiado: Lote: Contaminante: Detergente industrial. Método: Agua de enjuague. Volumen de muestra: 300 mL.			Fecha de limpieza: Limpiado por: Muestreado por: Verificado por:		
Punto de muestreo	Pruebas	Especificación	Antes del enjuague (blanco)	Después del enjuague (muestra)	Dictamen
Válvula de descarga	Conductividad	$\leq 1.30 \mu\text{S/cm}$			
	pH	5.0 – 7.0			
	Sustancias oxidables	La solución no decolora (*)			
Analizado por:			Aprobado por:		
Fecha:			Fecha:		

(*) si la solución no produce decoloración o cambio de color a un amarillo castaño, la concentración de materia orgánica oxidable es inferior a 0.4mg/L.

C. Cuantificación del contaminante

Producto limpiado: Lote: Método: Hisopado. Contaminante: PREDNISOLONA. Área de muestreo: 25 cm ² Solvente de muestreo: Agua purificada Volumen de solvente: 5mL		Método de cuantificación: HPLC. Fase móvil: Fosfato monobásico de potasio, hexilamina, agua/acetonitrilo Límite de aceptación: Menor a 10 ppm. Limpiado por: Muestreado por:	
Equipo	Puntos de muestreo	Resultado	Dictamen
Tanque de fabricación 01 de 400L	PT1		
	PT2		
	PT3		
	PT4		
	PT5		
	PT6		
	PT7		
Analizado por:		Aprobado por:	
Fecha:		Fecha:	

D. Análisis Microbiológico.

Producto limpiado: Lote: Método: Hisopado. Contaminante: Carga microbiana en superficie del equipo Área de muestreo: 25 cm ²		Solvente de muestreo: Agua purificada Volumen de solvente: 5mL Recuento de bacterias totales: Recuento de hongos y levaduras: Limpiado por: Muestreado por:	
Equipo	Puntos de muestreo	Resultado	Dictamen
Tanque de fabricación 01 de 400L	PT1		
	PT2		
	PT3		
	PT4		
	PT5		
	PT6		
	PT7		
Analizado por:		Aprobado por:	
Fecha:		Fecha:	

Comentarios:

.....

12.2. SEGUNDO CICLO DE LIMPIEZA

A. Inspección visual.

La inspección visual se realiza antes de realizado el hisopado e incluye visualizar las zonas interna y externa del equipo asegurándose que no exista presencia de restos de producto o materiales utilizados durante el procedimiento de limpieza.

Inspección visual: CONFORME NO CONFORME

Comentarios:

.....

.....

.....

.....

B. Análisis Fisicoquímico.

Producto limpiado: Lote: Contaminante: Detergente industrial. Método: Agua de enjuague. Volumen de muestra: 300 mL.			Fecha de limpieza: Limpiado por: Muestreado por: Verificado por:		
Punto de muestreo	Pruebas	Especificación	Antes del enjuague (blanco)	Después del enjuague (muestra)	Dictamen
Válvula de descarga	Conductividad	≤ 1.30 µS/cm			
	pH	5.0 – 7.0			
	Sustancias oxidables	La solución no decolora (*)			
Analizado por:			Aprobado por:		
Fecha:			Fecha:		

(*) si la solución no produce decoloración o cambio de color a un amarillo castaño, la concentración de materia orgánica oxidable es inferior a 0.4mg/L.

C. Cuantificación del contaminante.

Producto limpiado: Lote: Método: Hisopado. Contaminante: PREDNISOLONA. Área de muestreo: 25 cm ² Solvente de muestreo: Agua purificada Volumen de solvente: 5mL	Método de cuantificación: HPLC. Fase móvil: Fosfato monobásico de potasio, hexilamina, agua/acetonitrilo Límite de aceptación: Menor a 10 ppm. Limpiado por: Muestreado por:
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Equipo	Puntos de muestreo	Resultado	Dictamen
Tanque de fabricación 01 de 400L	PT1		
	PT2		
	PT3		
	PT4		
	PT5		
	PT6		
	PT7		
Analizado por:		Aprobado por:	
Fecha:		Fecha:	

D. Análisis Microbiológico.

Producto limpiado: Lote: Método: Hisopado. Contaminante: Carga microbiana en superficie del equipo. Área de muestreo: 25 cm ²		Solvente de muestreo: Agua purificada Volumen de solvente: 5mL Recuento de bacterias totales: Recuento de hongos y levaduras: Limpiado por: Muestreado por:	
Equipo	Puntos de muestreo	Resultado	Dictamen
Tanque de fabricación 01 de 400L	PT1		
	PT2		
	PT3		
	PT4		
	PT5		
	PT6		
	PT7		
Analizado por:		Aprobado por:	
Fecha:		Fecha:	

Comentarios:

.....

12.3. TERCER CICLO DE LIMPIEZA

A. Inspección visual.

La inspección visual se realiza antes de realizado el hisopado e incluye visualizar las zonas interna y externa del equipo asegurándose que no exista presencia de restos de producto o materiales utilizados durante el procedimiento de limpieza.

Inspección visual: CONFORME NO CONFORME

Comentarios:

.....

B. Análisis Fisicoquímico.

Producto limpiado: Lote: Contaminante: Detergente industrial. Método: Agua de enjuague. Volumen de muestra: 300 mL.			Fecha de limpieza: Limpiado por: Muestreado por: Verificado por:		
Punto de muestreo	Pruebas	Especificación	Antes del enjuague (blanco)	Después del enjuague (muestra)	Dictamen
Válvula de descarga	Conductividad	$\leq 1.30 \mu\text{S/cm}$			
	pH	5.0 – 7.0			
	Sustancias oxidables	La solución no decolora (*)			
Analizado por:			Aprobado por:		
Fecha:			Fecha:		

(*) si la solución no produce decoloración o cambio de color a un amarillo castaño, la concentración de materia orgánica oxidable es inferior a 0.4mg/L.

C. Cuantificación del contaminante

Producto limpiado: Lote: Método: Hisopado. Contaminante: PREDNISOLONA. Área de muestreo: 25 cm ² Solvente de muestreo: Agua purificada Volumen de solvente: 5mL		Método de cuantificación: HPLC. Fase móvil: Fosfato monobásico de potasio, hexilamina, agua/acetonitrilo Límite de aceptación: Menor a 10 ppm. Limpiado por: Muestreado por:	
Equipo	Puntos de muestreo	Resultado	Dictamen
Tanque de fabricación 01 de 400L	PT1		
	PT2		
	PT3		
	PT4		
	PT5		
	PT6		
	PT7		
Analizado por:		Aprobado por:	
Fecha:		Fecha:	

D. Análisis Microbiológico.

Producto limpiado: Lote: Método: Hisopado. Contaminante: Carga microbiana en superficie del equipo. Área de muestreo: 25 cm ²		Solvente de muestreo: Agua purificada Volumen de solvente: 5mL Recuento de bacterias totales: Recuento de hongos y levaduras: Limpiado por: Muestreado por:	
Equipo	Puntos de muestreo	Resultado	Dictamen

Tanque de fabricación 01 de 400L	PT1		
	PT2		
	PT3		
	PT4		
	PT5		
	PT6		
	PT7		
Analizado por:		Aprobado por:	
Fecha:		Fecha:	

Comentarios:

.....

.....

.....

.....

ANEXO N°2 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL HPLC AZURA



CERTIFICADO DE OPERATIVIDAD

Declaración del resultado obtenido en la verificación operacional del Sistema de Cromatografía Líquida de Alto Rendimiento " HPLC AZURA - DAD" de KNAUER.

- El sistema de HPLC evaluado cumple con las especificaciones establecidas por Knauer para cada módulo.
- La verificación operacional fue superada en modo cuaternario.
- Se uso el estándar de Cafeína Lote N081196

<u>Módulo</u>	<u>Modelo</u>	<u>Nº de Serie</u>
Bandeja de Solventes	N/A	N/A
Bomba Cuaternaria	P 6.1L	FBE164300002
Autosampler	3950	AZA163400005
Compartimiento Termostatzado	CT 2.1	FCA140700019
Detector de Arreglo de Diodos	DAD 6.1L	FOJ170300001

<u>Software de Control</u>	<u>Versión</u>
OpenLab CDS EZChrom	A.04.06

Compañía : Laboratorio Gencopharmaceutical S.A.C.

Dirección : Urb. El Éxito Mz: C Lt.11 – Ate Vitarte

Responsable de Servicio MS: Nilton Valverde Velásquez

Fecha : Abril 3, 2018

Nombre y firma del usuario : *José Luis Quinto Sarmiento*

Firma del responsable del servicio :

REPORTE DE SERVICIO N°000652/2018



MS CONSULTORIA EMPRESARIAL SAC
Av. Brasil N 2981 Dpto. 1503, Magdalena del Mar
www.msconsultoria.com.pe

ANEXO N°3 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE LA BALANZA METTLER TOLEDO

CERTIFICADO | CALIBRACIÓN

LABORATORIO DE CALIBRACIÓN ACREDITADO POR
EL ORGANISMO PERUANO DE ACREDITACIÓN
INACAL - DA CON REGISTRO N° LC - 021



QUÍMICA SUIZA INDUSTRIAL DEL PERÚ S.A.
LABORATORIO DE CALIBRACIÓN
Av. República de Panamá 2577 La Victoria - Lima - Telf: +51-1 710-4000 Anexo 2541
e-mail: satcalibracion@qsindustrial.biz
web: http://www.qsindustrial.biz/en/servicios/calibracion-de-equipos/

El contenido de este documento sólo puede publicarse o reproducirse de forma completa

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN : **BM0431 2018** OS **EX - 14745**

Solicitante : GENCOPHARMACEUTICAL S.A.C.
Dirección : Mz. C Lt. 11 - Urb. El Éxito - Ate - Lima

OBJETO DE CALIBRACIÓN : **BALANZA**
Marca : **METTLER TOLEDO**
Modelo : **AB204-S**
Serie : **1125521500**
Procedencia : **SUIZA**
Identificación : **CCBA-001**
Capacidad Máxima : **220 g**
División de escala (d) : **0,0001 g**
División de verificación (e) : **0,001 g**
Tipo : **ELECTRÓNICA**
Ubicación : **INSTRUMENTACIÓN**

FECHA DE CALIBRACIÓN : 2018-06-20

MÉTODO DE CALIBRACIÓN

Comparación directa con pesas patrones de acuerdo al Procedimiento de Calibración de Balanzas de Funcionamiento no Automático Clase I y Clase II. PC - 011 del SNM-INDECOPI, Cuarta Edición abril 2010.

LUGAR DE CALIBRACIÓN : INSTRUMENTACIÓN
Mz. C Lt. 11 - Urb. El Éxito - Ate - Lima

CONDICIONES AMBIENTALES

	Inicial	Final
Temperatura	24,8 °C	23,2 °C
Humedad Relativa	66,1 %	60,7 %

INCERTIDUMBRE

La incertidumbre reportada en el presente certificado es la incertidumbre expandida de medición que resulta de multiplicar la incertidumbre estándar por el factor de cobertura $k=2$. La estimación de la incertidumbre se realizó según el Procedimiento de Calibración de Balanzas de Funcionamiento no Automático Clase I y Clase II. PC - 011 del SNM-INDECOPI, Cuarta Edición abril 2010. Generalmente, el valor de la magnitud está dentro del intervalo de los valores determinados con la incertidumbre expandida con una probabilidad de aproximadamente 95 %.

Fecha de Emisión

Coordinador

2018-06-27

Carlos Mateo Villanueva

ANEXO N° 4 CERTIFICADO DE CALIFICACIÓN DE COLUMNA CROMATOGRÁFICA LUNA
5µm C18 100A

HPLC Certificate of Quality Assurance

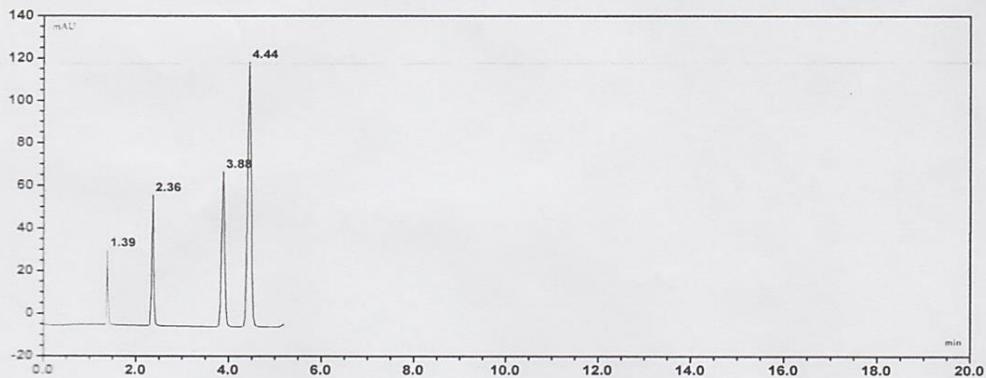


Part #: 00F-4252-E0
 Description: Luna® 5 µm C18(2) 100 Å

Serial #: H17-198312
 Size: 150 x 4.6 mm

Measured parameters below based on last peak

Plates/meter:	109620	k Factor:	2.204	Batch #:	5291-0149
Peak Asym.:	1.02	Ret. (min):	4.44	Analyte:	Naphthalene



Test Analytes

Peak	Analyte	Time	Area	k Factor	Width	Plates (N)	Asymmetry
1	Uracil	1.39	0.944	0.000	0.024	18591	1.31
2	Acetophenone	2.36	2.743	0.701	0.041	18335	1.12
3	Toluene	3.88	5.508	1.799	0.070	16801	1.05
4	Naphthalene	4.44	10.897	2.204	0.081	16443	1.02

Test Conditions

Mobile Phase:	75% MECN/H2O	Temperature (°C):	Ambient
Flow Rate (mL/min):	1.00	Injection (µL):	1.0
Wavelength (nm):	254	Back Pressure (psi):	1232
QC Approved:	MichelleJ	Instrument:	LC-1260-2
		Tested:	29-Jun-2017

Note: The equipment used to test this product was changed. Due to this, you may notice a slight change in back pressure and peak area indicated above. This change does not impact the quality or performance of the product. Effective March 1st 2016, the testing conditions for this part have changed. As a result, the retention time and chromatographic profile displayed will be different. Please reference www.phenomenex.com/testingupdate for additional information.

ANEXO N°5 CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DEL POTENCIOMETRO THERMO ORION 3 STAR

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN LV-0337-2018

Fecha de emisión
2018-08-25

- 1. SOLICITANTE** : **GENCOPHARMACEUTICAL S.A.C.**
Dirección : MZA. C LOTE. 11 URB. EL EXITO LIMA - LIMA - ATE
Expediente : 0073-18
- 2. INSTRUMENTO DE MEDICIÓN:** **PH METRO**
Marca : THERMO ELECTRON CORPORATION
Modelo : ORION 3 STAR
Procedencia : U.S.A.
Número de Serie : 007301
Identificación : CCPT-001
Alcance de Escala : 0.0 pH a 14.0 pH
División de Escala : 0.01 PH

3. FECHA Y LUGAR DE LA CALIBRACIÓN

Calibrado el 2018-08-25 en las instalaciones de GENCOPHARMACEUTICAL S.A.C.

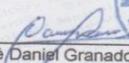
4. MÉTODO DE CALIBRACIÓN

La calibración se realizó con soluciones patrones que tienen trazabilidad al NIST, tomando como referencia el Procedimiento PC-020 "Procedimiento para la calibración de medidores de pH", 1ra edición, Junio 2010, SNM-INDECOPI

5. TRAZABILIDAD

Patrón utilizado	Certificado
Termómetro Patrón	LT-027-2018 INACAL
Solución Patrón PH 4	Nº producto 14I51, Lote 9259
Solución Patrón PH 7	Nº producto 22D51, Lote 8818
Solución Patrón PH 10	Nº producto 29A53, Lote 8537

Este certificado de calibración sólo puede ser difundido completamente y sin modificaciones. Los extractos o modificaciones requieren la autorización de Metrology Service S.A.C.
Los certificados carecen de validez sin las firmas y sello del Departamento de Metrología


José Daniel Granados Flores
Jefe de Calidad



CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN LV-0318-2018

Fecha de emisión
2018-07-09

1. SOLICITANTE : **GENCOPHARMACEUTICAL S.A.C.**
Dirección : MZA. C LOTE. 11 URB. EL EXITO LIMA - LIMA - ATE
Expediente : 0069-18

2. INSTRUMENTO DE MEDICIÓN: **CONDUCTIMETRO**
Indicación : DIGITAL
Marca : WTW
Modelo : Cond 330i
Número de Serie : 07020132 / 06470297 (sensor)
Procedencia : GERMANY
Identificación : CCCM-001
Rango de Indicación : 0 - 1999 μ S/cm / 0 - 1999mS/cm
División Mínima : 0.1 μ S/cm / 0.01mS/cm

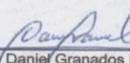
3. FECHA Y LUGAR DE LA CALIBRACIÓN
Calibrado el 2018-07-07 en los laboratorios de Control de Calidad de Gencopharmaceutical S.A.C.

4. MÉTODO DE CALIBRACIÓN
Comparación directa con soluciones patrones certificados

5. TRAZABILIDAD

Patrón utilizado	Certificado
Termómetro Patrón	LT-027-2018 INACAL
Solución Patrón	Product code: HI7031L; Lot Number:6886
Solución Patrón	Product code: HI7030L; Lot Number:6849

Este certificado de calibración sólo puede ser difundido completamente y sin modificaciones. Los extractos o modificaciones requieren la autorización de Metrology Services S.A.C.
Los certificados carecen de validez sin las firmas y sello del Departamento de Metrología


José Daniel Granados Flores
Jefe de Calidad



**ANEXO N°7 PROTOCOLO DE ANÁLISIS DE ESTANDAR SECUNDARIO DE PREDNISOLONA
SODIO FOSFATO**

Laboratorio
GENCOPHARMACEUTICAL S.A.C.

CC
F.CC-033-3

**CONTROL DE CALIDAD
PROTOCOLO DE ESTANDAR SECUNDARIO**

Producto : Prednisolona Fosfato Sodico	Norma técnica : USP 40
Lote : K09A20170806	Número de análisis : MP045-18
Código : 10108	Cantidad : 20,0 g
Proveedor : HENAN LIHUA PHARMACEUTICAL	Fecha de Análisis : 2018-03-16
Línea : Gencopharmaceutical	Fecha de Expira : 2020-07
	Fecha de Reanálisis : 2019-09-16

ENSAYOS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
DESCRIPCION	Polvo blanco o granulos friables, blancos o levemente amarillos. Es inodoro o tiene un olor leve. Es ligeramente higroscopico.	Polvo blanco o granulos friables, blancos o levemente amarillos. Es inodoro o tiene un olor leve. Es ligeramente higroscopico.
IDENTIFICACION	A. El espectro de absorcion IR de la muestra presentan maximos a las mismas longitudes de onda que la preparacion estandar. B. El residuo de incineracion cumple con los requisitos de las pruebas para sodio y para fosfato.	A. El espectro de absorcion IR de la muestra presentan maximos a las mismas longitudes de onda que la preparacion estandar. B. El residuo de incineracion cumple con los requisitos de las pruebas para sodio y para fosfato.
AGUA	Maximo 6.5%	5.40%
CONTENIDO SUSTANCIA ANHIDRA	96.0% - 103,0%	97.68%(B/S) 92.41%(T/C)
CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO: Envase herméticamente cerrado protegido de la luz, humedad y conservar en la refrigeradora .		

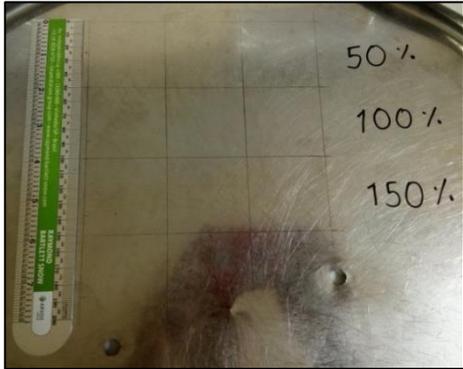
Observaciones: Estandar de referencia: Prednisolona fosfato sodico USP Lote: G0L556
Prednisolona USP Lote: N1J277

Disposición: Aprobado

KFG
.....
Analista

[Firma]
.....
Jefe de Control de Calidad

**ANEXO N°8 PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO DE RECUPERACIÓN DE PREDNISOLONA
SODIO FOSFATO**



1. En una superficie metálica representar áreas de 25cm² para la siembra de las 3 concentraciones a recuperar.



2. Preparación de soluciones estándar (50, 100 y 150%)



3. Siembra de 1.0mL de soluciones estándar



4. Evaporar el solvente y recuperar por el método de hispado en 5ml de fase móvil.

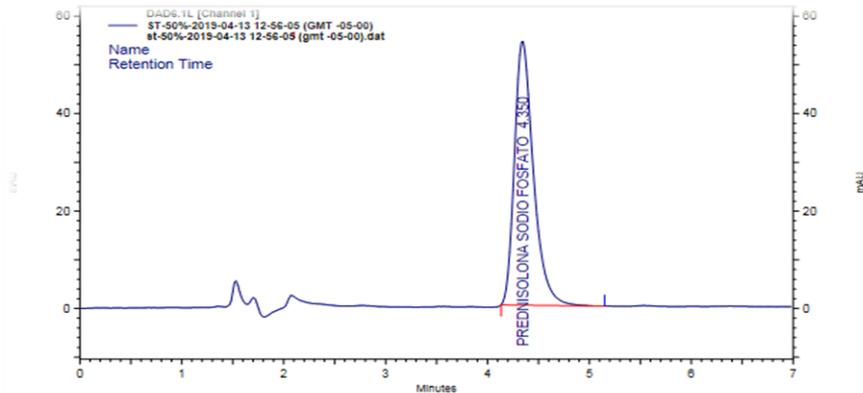


5. Someter las muestras recuperadas al ultrasonido por 15 minutos.



6. Análisis por HPLC

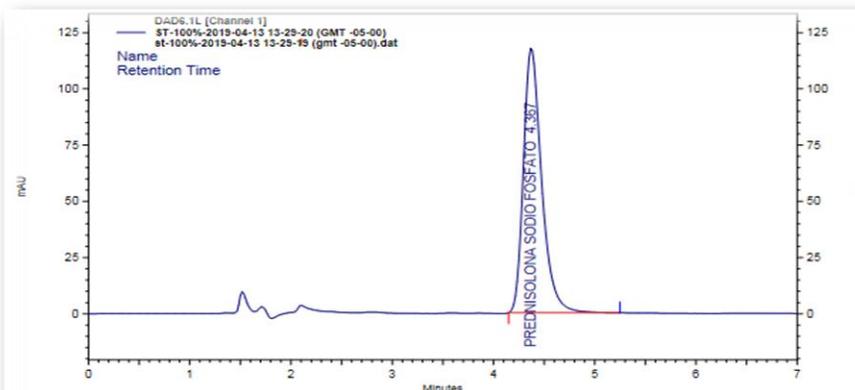
ANEXO N°9 CROMATOGRAMAS DEL ESTUDIO DE RECUPERACIÓN DE PREDNISOLONA SODIO FOSFATO



RECUPERACIÓN AL 50%

El tiempo de retención del pico principal es de 4,35 presenta un área de 70238146 y un plato teórico de 2792,9736 indicando la buena eficiencia de la columna

Retention Time	Name	Area	Units	ESTD concentration	Theoretic al plates (USP)	Asymmetry
4.350	PREDNISOLONA SODIO FOSFATO	70238146	mg/5mL	0.000000	2792.9736	1.325
Totals		70238146		0.000000		



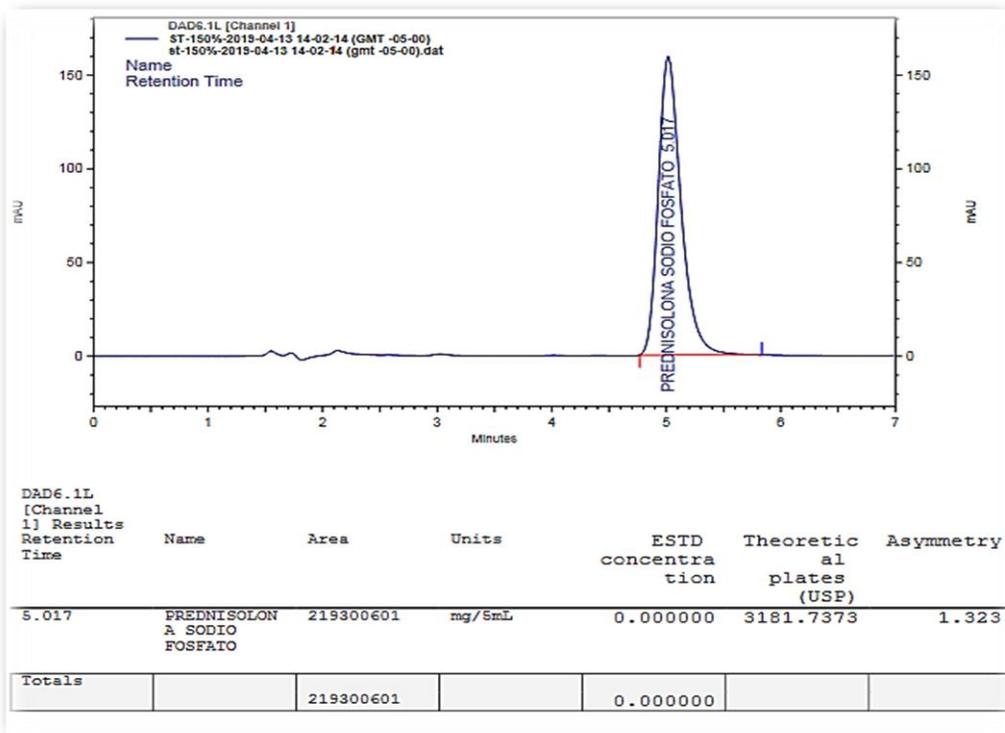
RECUPERACIÓN AL 100%

El tiempo de retención del pico principal es de 4,36; con un área de 146554997 y plato teórico de 2976,4829 indicando la buena eficiencia de la columna cromatográfica.

Retention Time	Name	Area	Units	ESTD concentration	Theoretic al plates (USP)	Asymmetry
4.367	PREDNISOLONA SODIO FOSFATO	146554997	mg/5mL	0.000000	2976.4829	1.399
Totals		146554997		0.000000		

RECUPERACION AL 150%

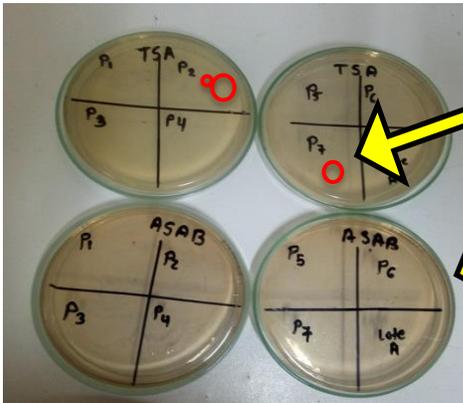
El tiempo de retención del pico principal es de 5,01; con un área de 219300601 y plato teórico de 3181,7373 indicando la buena eficiencia de la columna cromatográfica.



El crecimiento de areas es proporcional a la cocentracion de Prednisolona sodio fosfato, el tiempo de retencion se mantiene constante y los platos teoricos generado son mayor a 1000, lo que significa que la columna cromatografica con la que se corrio las muestras tiene buena eficiencia para separar el analito.

ANEXO N°10 RESULTADOS DEL ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO DE LOS PUNTOS CRÍTICOS DE TRES LOTES EVALUADOS EN AGAR TRIPTICASA SOYA Y EN AGAR SABOUROUD.

Lote 1:

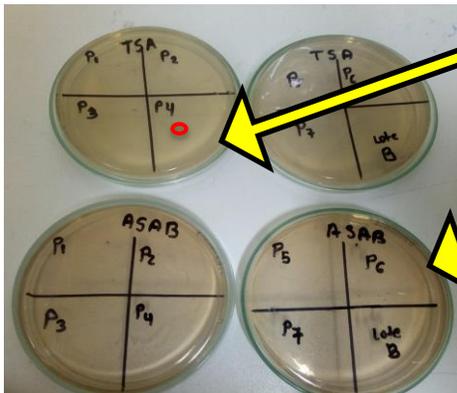


Agar TSA (mesófilos viables): Se observa crecimiento de 2UFC en el P2 y 1UFC en P7 en el Lote 1.

Agar ASAB (hongos y levaduras): Se observa ausencia de crecimiento fúngico.

Análisis microbiológico: Cumple con las especificaciones.

Lote 2:

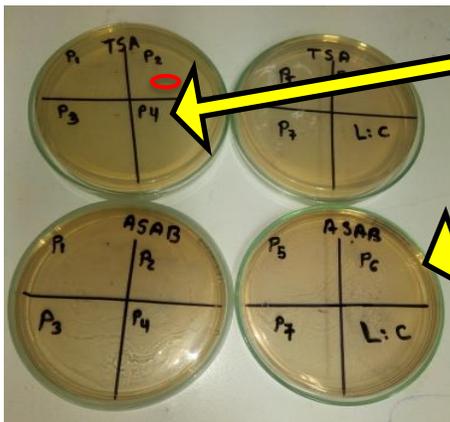


Agar TSA (mesófilos viables): Se observa crecimiento de 1UFC en el P4 Lote 2.

Agar ASAB (hongos y levaduras): Se observa ausencia de crecimiento fúngico.

Análisis microbiológico: Cumple con las especificaciones.

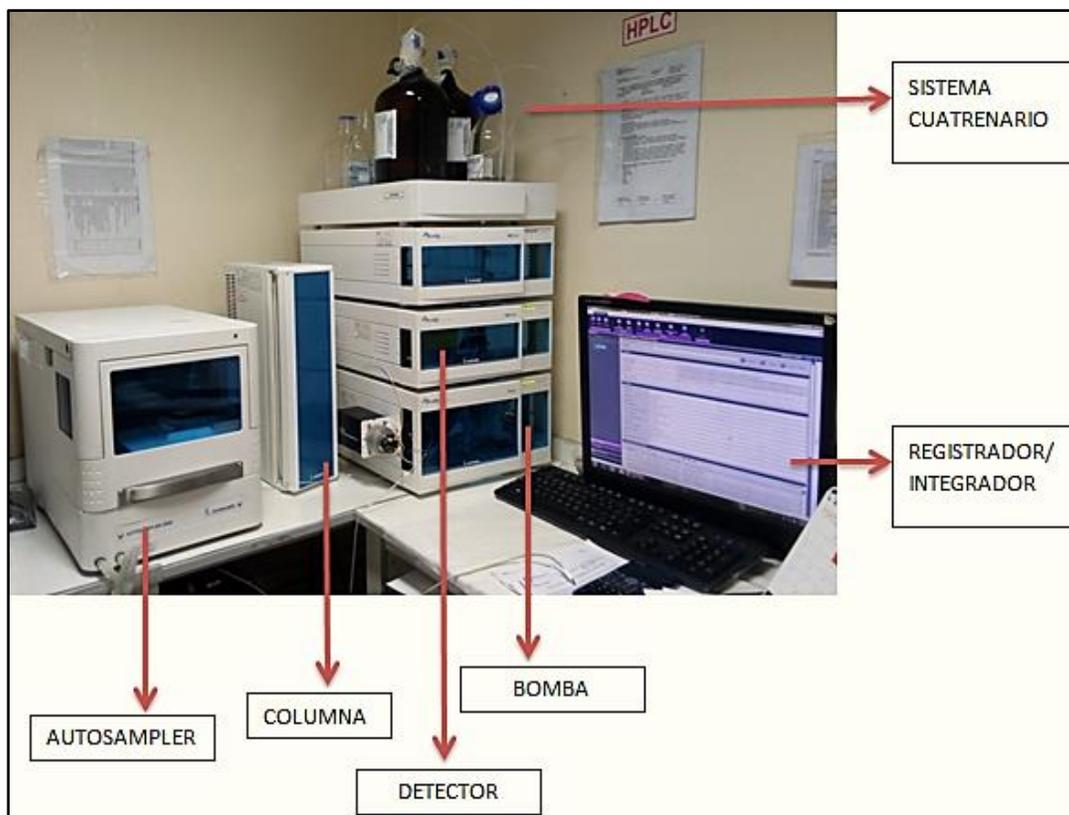
Lote 3:



Agar TSA (mesófilos viables): Se observa crecimiento de 1UFC en el P2 del Lote 3.

Agar ASAB (hongos y levaduras): Se observa ausencia de crecimiento fúngico.

Análisis microbiológico: Cumple con las especificaciones.



Cromatógrafo líquido de alta resolución marca AZURA, presenta un sistema de bombeo cuaternario, un detector de fotiodo que permite leer la muestra a diferentes longitudes de onda, un autosampler para la colocación de muestras y una cámara para la columna acondicionada para mantener a temperatura requerida. El registrador presenta el software OpenLab CDS EZChrom para cálculo de datos

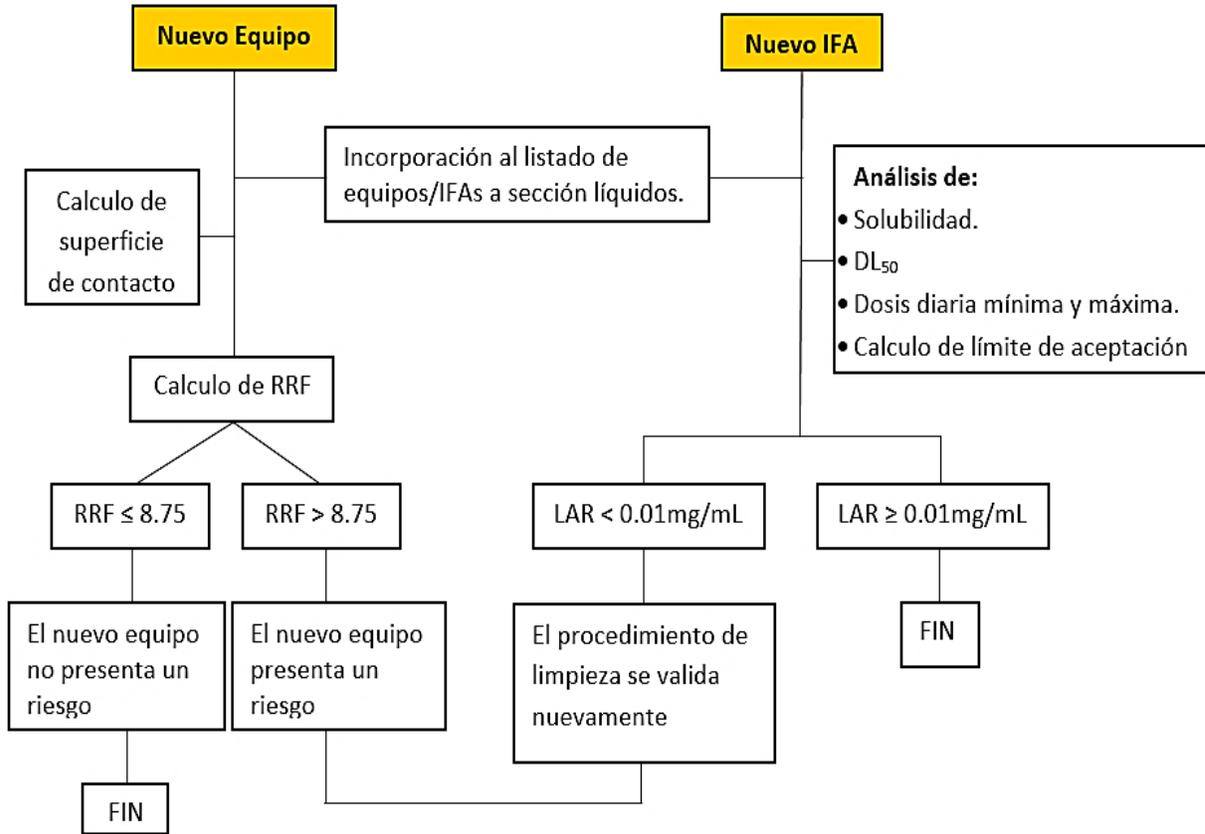
**ANEXO N°12 INFORME TÉCNICO DE VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA EN
EQUIPOS DE FABRICACIÓN DE LÍQUIDOS ORALES**

PARÁMETRO	RESULTADOS
CONTAMINANTE ACTIVO PEOR CASO)	PREDNISOLONA SODIO FOSFATO.
Equipo seleccionado como peor caso	TANQUE DE FABRICACIÓN 1 DE 400 L
Selección de puntos de muestreo	7 PUNTOS CRÍTICOS <ul style="list-style-type: none"> • Borde o boca del equipo. • Pared interna superior. • Pared interna media. • Pared interna inferior. • Base interna. • Tubo de descarga interna. • Válvula de descarga.
Métodos de muestreo	<ul style="list-style-type: none"> • Método hisopado. • Agua de ultimo enjuague (Clearance).
Análisis fisicoquímicos y microbiológicos Lotes 1,2 y 3	<ul style="list-style-type: none"> • Cuantificación de trazas <a 10ppm. • Conductividad del agua de enjuague < 1,3us/cm. • pH del agua de enjuague entre 5-7. • sustancias oxidables: Coloración rosa permanente con KMnO₄. • microorganismos aerobios viables <1ufc/25cm². • hongos filamentosos y levaduras : Ausente.
Conclusiones	<p>El análisis de tres lotes continuos de trazas de Prednisolona sodio fosfato, las pruebas fisicoquímicas y microbiológicas dan resultados que están dentro de los límites establecidos, demostrándose que la limpieza del TANQUE DE FABRICACIÓN 1 DE 400 L es la adecuada y esta validada.</p>

ANEXO 13 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO P POR CROMATOGRAFÍA DE ALTA RESOLUCIÓN PARA CUANTIFICACIÓN DE TRAZAS DE PRENISOLONA SODIO FOSFATO

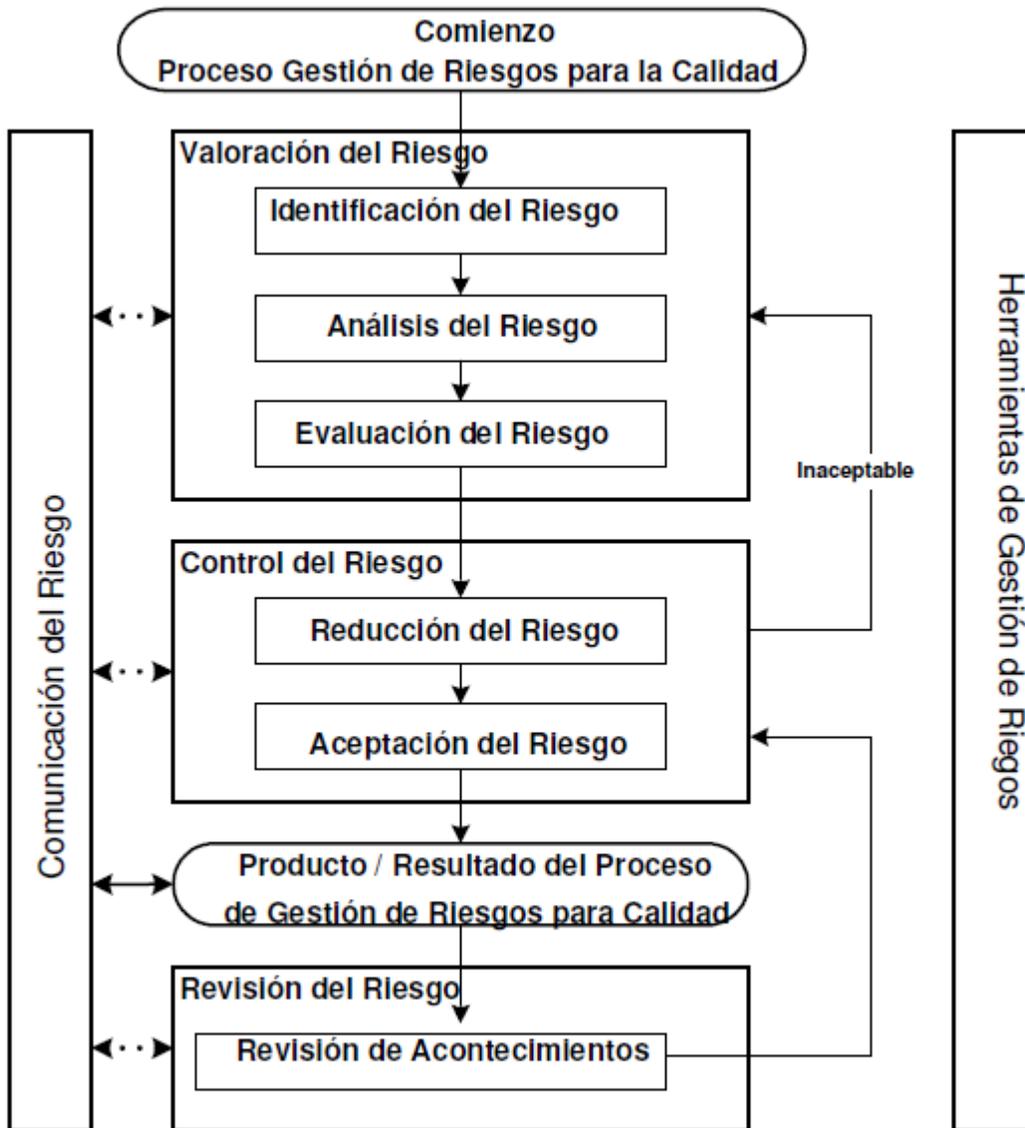
PARÁMETRO	RESULTADOS
APTITUD DEL SISTEMA	No presento más del 2,0% en la desviación estándar relativa (DSR%) entre las 5 inyecciones sucesivas del estándar, con respecto al área y el tiempo de retención.
SELECTIVIDAD	No presento interferencias en la misma longitud de onda del diluyente y los excipientes de la matriz del producto. siendo estable la prednisolona sodio fosfato en sus diferentes condiciones de estrés en no menos del 70% de lo declarado.
LINEALIDAD DEL SISTEMA	<p>Coeficiente de correlación $\geq 0,999$: 0.99933 Recta de regresión : $Y= 16128763368.06X - 1186869.353$</p> <p>Se establece el valor de: b = Pendiente =16128763368.06 a=Intercepto=1186869.353 Test de Linealidad Coeficiente de Variación de los Factores de Respuesta Máximo 2.0% : 1.49622% "t" de Student experimental mayor al "t" de tablas : 96.84 Test de Proporcionalidad "t" de Student experimental menor al "t" de tablas : 0.715.</p>
PRECISIÓN	<p>Precisión del Sistema ó Repetibilidad Instrumental: Coeficiente de Variación (CV) Máximo 2,0% :0.63 para áreas y 0,26 para tiempo de retención. Precisión Intermedia: Coeficiente de Variación (CV) Máximo 2.0%: 1.38 % entre analista 1 y 2</p>
EXACTITUD	<p>Porcentaje de Recuperación Media: 70,0 - 150% Recuperación: 87,93% Coeficiente de Variación (CV). Máximo 2.0%: 1.25%.</p>
LÍMITE DE DETECCIÓN Y CUANTIFICACIÓN	<p>Límite de detección: 0.0000465ppm ($\mu\text{g/mL}$) Límite de cuantificación: 0.00001550ppm ($\mu\text{g/mL}$)</p>
CONCLUSIONES	<p>El método analítico cumple con las especificaciones para Linealidad, Precisión, Exactitud, y se determinó los límites de detección y cuantificación, demostrándose la capacidad analítica del método para cuantificar trazas de prednisolona sodio fosfato. Al demostrarse el cumplimiento de los parámetros analizados, el método esta validado.</p>

ANEXO 14 FLUJOGRAMA DEL PROCESO DE EVALUACION EN CASO DE INCORPORAR UN NUEVO IFA O EQUIPO A LA SECCION LIQUIDOS ORALES DE LA PLANTA FARMACEUTICA.



Fuente: Elaboración propia de los investigadores.

ANEXO 15 FLUJOGRAMA GENERAL DEL PROCESO DE ANÁLISIS DE RIESGO EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA SEGÚN LA ICH Q9



Fuente: ICH Q9 on Quality Risk Management.