

**UNIVERSIDAD NACIONAL DE SAN ANTONIO ABAD DEL
CUSCO
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA SALUD
ESCUELA PROFESIONAL DE FARMACIA Y BIOQUÍMICA**



**VALIDACIÓN DEL PROCESO DE LLENADO ASÉPTICO EN EL
ÁREA DE INYECTABLES DE UN LABORATORIO DE FABRICACIÓN
DE PRODUCTOS FARMACÉUTICOS ESTÉRILES.**

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

PRESENTADO POR: Bach. LUZ EDIHT GUTIERREZ RAMIREZ
Bach. MARGOT PAMELA CORONADO SAAVEDRA.

ASESOR: Mgt. Q.F ANAHI KARINA CARDONA RIVERO.

CUSCO – PERÚ

2022

DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada en primera instancia a Dios, por darme la vida y permitirme llegar hasta este momento muy importante de mi formación profesional y personal.

A mis queridos padres, por ser los pilares fundamentales a lo largo de mi vida, por apostar por mí y creer en mis capacidades. Gracias por los aportes invaluable, su cariño, amor, esfuerzo, la paciencia brindada y ser siempre el apoyo incondicional que me ha permitido llegar a cumplir una de mis mayores metas.

A mis hermanos, por estar conmigo en todo momento, por su enorme cariño, sus consejos y palabras de aliento durante todo este proceso y a toda mi familia por sus oraciones.

Finalmente quiero dedicar esta tesis a todos mis amigos, docentes, compañeros de trabajo que contribuyeron y compartieron sus conocimientos y experiencias.

LUZ GUTIERREZ

La presente tesis le dedico a Dios todopoderoso, por darme la fuerza necesaria a lo largo de este proceso y poder obtener uno de mis mayores metas.

A mi mama Griselda y mi papa Diógenes, por su tiempo amor que me brindan y todo el sacrificio puesto, gracias a ustedes he logrado concluir con mi etapa de formación y poder obtener el título.

A mis hermanos Maga, Carlos y Diego por estar siempre para mí y tener su apoyo moral e incondicional, les estaré siempre muy agradecida.

A todas las personas que colaboraron para poder hacer realidad este trabajo, al laboratorio, al personal de producción y microbiología, gracias por compartir sus conocimientos.

MARGOT PAMELA

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, a mi familia. Mi madre, Nazaria Ramirez, mi padre, Luis Gutierrez, mis hermanos, Marilú Gutierrez y Luis Alberto Gutierrez, y a toda mi familia que son mi mayor motivación para alcanzar mis metas.

Expresar mi sincero agradecimiento al Dr. José Medrano, por impartir sus conocimientos y asesorarnos durante todo este proceso y brindarnos su apoyo incondicional.

A la Dra. Anahí Cardona, docente de la universidad San Antonio Abad del Cusco por apoyarnos en la asesoría para poder realizar este trabajo; además de brindarnos sus conocimientos durante la vida universitaria.

A nuestros compañeros de laboratorio, por haberme apoyado en el día a día con los diferentes procedimientos, técnicas y manejo de equipos durante el desarrollo de este trabajo.

Finalmente, agradecer a mis amigos: Gerard, Ben por el apoyo emocional e incondicional a lo largo de este año.

LUZ GUTIERREZ

Agradecemos al laboratorio por las facilidades y brindadas

Agradecemos a todos compañeros de trabajo de las diferentes áreas Control de Calidad, Aseguramiento, Producción.

Agradecemos a la Mgt. Q.F. Anahí Karina Cardona Rivero por apoyarnos en asesoría.

A las personas que son parte de este trabajo y que desinteresadamente nos brindaron todo su apoyo oportuno en el trabajo de investigación.

MARGOT PAMELA

ÍNDICE

RESUMEN.....	13
INTRODUCCIÓN.....	15
CAPÍTULO I	17
1. GENERALIDADES	17
1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	17
1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.....	19
1.3 OBJETIVOS	19
1.3.1 Objetivo general.....	19
1.3.2 Objetivos específicos.....	20
1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN.....	20
1.4.1 Conocimiento.....	20
1.4.2 Aplicabilidad	21
1.4.3 Prioridad	21
1.5 HIPÓTESIS	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	25
2.1.3 Antecedentes Locales.....	27
2.2 BASES TEÓRICOS Y CIENTIFICAS.....	29
2.2.1 VALIDACIÓN	29
2.2.1.1 TIPOS DE VALIDACIÓN	30
a) Validación prospectiva	30
b) Validación retrospectiva.....	31
c) Validación concurrente	31
d) Validación esbelta.....	31
e) Validación en tiempo real.....	32
2.2.1.2 COMITÉ DE VALIDACIÓN	32
2.2.1.3 PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN	32
2.2.1.4 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN	32
2.2.1.5 REPORTE DE VALIDACIÓN	33
2.2.1.6 ACTIVIDADES DE CALIFICACIÓN	33
2.2.1.7 ACTIVIDADES DE VALIDACIÓN.....	35
2.2.1.8 VALIDACIÓN DE PROCESOS	35
2.2.1.9 VALIDACIÓN DE LLENADO ASÉPTICO.....	36
2.2.2 DISEÑO PARA LAS PRUEBAS DE LLENADO ASÉPTICO.....	39

2.2.2.1	REALIZAR LA ESTERILIZACIÓN.....	39
2.2.2.2	REALIZAR LA DESINFECCIÓN	40
2.2.2.3	EMPLEAR EL PEOR CASO	41
2.2.2.4	REALIZAR LA DOCUMENTACIÓN	42
2.2.2.5	ESTABLECER LAS FRECUENCIA Y NÚMERO DE PRUEBAS.....	43
2.2.2.6	ESTABLECER LA DURACIÓN DE LAS PRUEBAS.....	44
2.2.2.7	ESTABLECER EL TAMAÑO DE PRUEBA	44
2.2.2.8	ESTABLECER LA VELOCIDAD DE LA LÍNEA	46
2.2.2.9	EVALUAR LAS CONDICIONES AMBIENTALES.....	47
2.2.2.10	ELECCIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.....	47
2.2.2.11	ESTERILIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.....	48
2.2.2.12	INCUBACIÓN Y ANÁLISIS DE LAS UNIDADES DE LLENADO ASÉPTICO	48
2.2.3	MANTENIMIENTO DEL ESTADO VALIDADO.....	51
2.2.3.1	PROGRAMA DE APOYO O SOPORTE	51
2.2.3.2	REVALIDACIÓN	51
2.2.4	ESTERILIZACIÓN	52
2.2.5	PRODUCTOS ESTERILES	55
2.2.6	ACABADO DE PRODUCTOS ESTÉRILES.	57
CAPÍTULO III		59
MÉTODOLOGÍA.....		59
3.1	MATERIALES E INSTRUMENTOS	59
3.1.1	Equipos.....	59
3.1.2	Materiales	59
3.1.3	Reactivos y soluciones	60
3.1.4	Instrumentos mecánicos-eléctricos.....	60
3.1.5	Suministro de apoyo crítico.....	60
3.2	DISEÑO METODOLÓGICO.....	60
3.2.1	Ubicación y tiempo	60
3.2.2	Tipo de investigación y diseño metodológico	61
3.2.3	Diseño de la investigación	61
3.2.4	Universo, población y muestra.....	62
a)	Universo	62
b)	Población.....	62
c)	Muestra.....	62
3.2.5	Tamaño de muestra.....	62
3.2.6	Tipo de muestreo.....	62
3.2.7	Criterios de selección.....	62
3.3	IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES	63
3.3.1	VARIABLES INDEPENDIENTES.....	63

3.3.1.1	LLENADO ASPETICO	63
3.3.1.1.1	Fabricación	63
3.3.1.1.2	Sistema envase-cierre	66
3.3.1.1.3	Condiciones ambientales para el llenado aséptico.....	67
3.3.1.1.4	Peor caso - Proceso de envasado	71
b)	Velocidad de la máquina envasadora	71
c)	Tiempo total de operación	72
d)	Volumen de medio de cultivo a envasar.....	72
e)	Número de personas participantes en la operación	73
3.3.2	VARIABLES DEPENDIENTES:	73
3.3.2.1	Productos estériles	73
3.4	PROCEDIMIENTO	77
3.4.1	LLENADO ASÉPTICO	77
3.4.1.1	ETAPA DE FABRICACIÓN.....	77
3.4.1.1.1	Proceso de fabricación del medio de cultivo	77
3.4.1.1.2	Filtración estéril del medio de cultivo	79
3.4.1.2	SISTEMA DE ENVASE - CIERRE	80
3.4.1.3	CONDICIONES AMBIENTALES PARA EL LLENADO ASÉPTICO.....	81
3.4.1.4	PEOR CASO - PROCESO DE ENVASADO	83
3.4.1.4.1	Complejidad de las operaciones	83
3.4.1.4.2	Tamaño del lote	83
3.4.1.4.3	Velocidad que corresponde a la máquina envasadora.....	83
3.4.1.4.4	Tiempo de duración de la operación.....	84
3.4.1.4.5	Volumen de medio de cultivo a envasar.....	85
3.4.1.4.6	Número de personas que participa en el proceso	85
3.4.2	INSPECCIÓN, INCUBACIÓN Y LECTURA DE LAS AMPOLLAS ENVASADAS.....	87
3.4.3	ANÁLISIS DE RESULTADOS.....	91
3.4.3.1	Interpretación de Resultados	91
3.4.3.2	Condiciones para invalidar la prueba	92
3.4.4	TECNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN	92
3.4.4.1	Técnica de recolección de información	92
3.4.4.2	Instrumentos	93
3.4.4.3	Técnicas de análisis de datos	94
CAPÍTULO IV	95
	ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN	95
4.1	RESULTADOS LLENADO ASÉPTICO	95
4.1.1	FABRICACIÓN.....	95
4.1.2	SISTEMA ENVASE CIERRE.	101
4.1.3	CONDICIONES AMBIENTALES PARA EL LLENADO ASÉPTICO.....	103

4.1.4	PEOR CASO DEL PROCESO DE ENVASADO	118
4.2	RESULTADOS DE LA ESTERILIDAD DE LAS AMPOLLAS ENVASADAS POR LLENADO ASÉPTICO	126
	CONCLUSIONES.....	128
	SUGERENCIAS.....	130
	GLOSARIO DE TÉRMINOS	131
	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	137
	ANEXOS.....	142

LISTA DE TABLAS

- Tabla N° 1:** Criterios de aceptación de acuerdo con cada rango de tamaño de lote.
- Tabla N°2:** Clasificación de partículas en el aire para las áreas limpias utilizadas en la producción de productos estériles
- Tabla N°3:** Salas limpias de la planta de producción de productos estériles.
- Tabla N°4:** Operacionalización de variables.
- Tabla N°5:** Puntos de muestreo en sala de envase
- Tabla N°6:** Puntos de monitoreo microbiológico de ambientes y superficies.
- Tabla N°7:** Secuencia de llenado.
- Tabla N°8:** Resultados del control de Bioburden del medio de cultivo.
- Tabla N°9:** Resultados del ensayo de integridad de filtro de esterilización por el método de punto de burbuja.
- Tabla N°10:** Resultados de la esterilidad medio de cultivo
- Tabla N°11:** Resultado del ensayo de promoción de crecimiento del medio de cultivo.
- Tabla N°12:** Resultados de la esterilidad de ampollas.
- Tabla N°13:** Prueba de control de endotoxinas bacterianas de las ampollas.
- Tabla N°14:** Resultados de control microbiológico ambiental de salas limpias de fabricación método exposición de placas con agar TSA.
- Tabla N°15:** Resultados de control microbiológico ambiental de salas limpias de lavado de ampollas método exposición de placas con agar TSA
- Tabla N°16:** Resultado de control microbiológico ambiental de la sala de envase - método exposición de placas con agar TSA.
- Tabla N°17:** Control microbiológico ambiental de la sala de envase por método muestreo volumétrico.
- Tabla N°18:** Resultado del control microbiológico de superficie de equipos e instalaciones de la sala de envase por el método hisopado
- Tabla N°19:** Resultados del control microbiológico en uniformes del personal por el método de plaqueo USP <1116>.
- Tabla N°20:** Resultado del tamaño de lote en la validación.
- Tabla N°21:** Resultado de la velocidad de la máquina.
- Tabla N°22:** Resultado del volumen de medio de cultivo.
- Tabla N°23:** Resultado del tiempo total de operación.

Tabla N° 24: Resultado del número de personas que participa en el proceso.

Tabla N° 25: Resultado de la inspección de las ampollas envasadas.

LISTA DE FIGURAS

Figura N°1: Ensayo de punto de burbuja.

Figura N°2: Esquema de la distribución de personal en el proceso de llenado

Figura N°3: Resultados del control de Bioburden

Figura N°4: Volumen envasado primera prueba

Figura N°5: Volumen envasado segunda prueba

Figura N°6: Volumen envasado tercera prueba

LISTA DE FLUJOGRAMA

Flujograma N°1: Proceso de fabricación y filtración estéril.

Flujograma N°2: Elección del peor caso.

Flujograma N°3: Inspección, incubación y lectura de las ampollas.

Flujograma N°4: Diagrama general del proceso llenado aséptico.

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema N° 1: Proceso de preparación

Esquema N° 2: Sala de filtración

LISTA DE ANEXOS

Anexo N° 1: Protocolo o certificado de calidad del filtro.

Anexo N° 2: Puntos críticos a controlar.

Anexo N° 3: Formato para verificar el estado de validación y calificación.

Anexo N° 4: Formato de reporte de Bioburden del medio de cultivo.

Anexo N° 5: Hoja de reporte del test de punto de burbuja.

Anexo N° 6: Formato de reporte de prueba de esterilidad.

Anexo N° 7: Formato de reporte de la prueba de promoción de crecimiento.

Anexo N° 8: Formato de reporte de la prueba de endotoxinas bacterianas.

Anexo N° 9: Formato de control ambiental por exposición de placas - Sala de fabricación y lavado.

Anexo N° 10: Formato de control ambiental por exposición de placas – Sala de envase.

Anexo N° 11: Formato de control ambiental por método volumétrico.

Anexo N°12: Formato de control microbiológico de superficie, equipos e instalaciones.

Anexo N° 13: Formato de control microbiológico de uniforme del personal.

Anexo N° 14: Formato de control de volumen durante el envasado.

Anexo N° 15: Formato de registro de temperatura y humedad relativa.

Anexo N° 16: Formato de inspección de ampollas.

Anexo N° 17: Cuadro de consolidado de ampollas envasadas.

Anexo N° 18 Formato de análisis fisicoquímico de agua para inyección.

Anexo N°19: Formato de control de endotoxinas bacterianas en agua para inyección.

Anexo N°20: Registro de temperatura, humedad relativa y presión diferencial.

Anexo N° 21: Determinación de biocontaminación de gases.

Anexo N° 22: Condiciones previas.

Anexo N° 23: Estado de la validación y calificación

Anexo N° 24: Resumen del estado de calificación salas (áreas).

Anexo N° 25: Resumen del estado de calificación y calibración de equipos /instrumentos.

Anexo N° 26: POE-004-00 Muestreo y ensayo de Bioburden.

Anexo N° 27: Instructivo 001-00 Prueba de integridad de filtro.

Anexo N° 28: Instructivo-P008-03 Ensayo de esterilidad.

Anexo N° 29: Instructivo-P002-02 Promoción de medios de cultivo.

Anexo N° 30: Instructivo-A003-02 Determinación de endotoxinas bacterianas en agua osmotizada y condensado de vapor por el método gel Clot.

Anexo N°31: Instructivo-P021-05 Monitoreo de partículas viables en las áreas de producción estéril.

Anexo N° 32: Consolidado de unidades envasadas (tiempo y temperatura de incubación)

Anexo N° 33: Imágenes fotográficas

Anexo N° 34: Protocolo de validación

Anexo N° 35: Reporte de validación

Anexo N° 36: Certificado de calibración

ABREVIATURAS

ANM:	Autoridad Nacional de Medicamentos - Perú
AEMPS:	La Agencia Española de medicamentos y productos sanitarios
APA:	Área de procesamiento aséptico
APC:	Agar Plate Count
API:	Principios activos
ATB N°1:	Agar N°1 para Antibióticos.
ATB N°2:	Agar N°2 para Antibióticos.
BPM:	Buenas Prácticas de Manufactura
C°:	Centígrados
CL:	Caldo Lactosado
CET:	Agar Cetrimide
CSE:	Control estándar de endotoxinas
CIP:	(Clean in Place) Limpio en su lugar
CRV:	Caldo Rappaport-Vassiliadis
DIGEMID:	Dirección General de Medicamentos Insumos y Drogas
DQ:	Calificación de desempeño
DSA:	Agar Sabouraud Dextrosa
EMB:	Agar Eosina Azul de Metileno
FDA:	(Food and Drug Administration) Administración de Medicamentos y Alimentos.
FODA:	Fortalezas, Oportunidades, Debilidades, Amenazas
GMP:	(Good manufacturing practices) Buenas prácticas de manufactura
HVAC:	Sistema de ventilación, calentador y aire acondicionado
IBs:	Indicadores Biológicos
ICH:	Conferencia Internacional de Armonización
IQ:	Calificación de Instalaciones
ISO:	International Organization for Standardization
ISPE:	International Society for Pharmaceutical Engineering
LAL:	Ensayo del lisado de amebocitos del Limulus
MCK:	Agar Mac Conkey

MS:	Agar Manitol Salado
OMS:	Organización Mundial de la Salud
OQ:	Calificación de operación
PDA:	Asociación de medicamentos parenterales
PEBD:	Polietileno de baja densidad
PLLA:	Proceso de llenado aséptico
PMA:	Asociación de Fabricantes Farmacéuticos
PMV:	Plan Maestro de Validación
PNO:	Procedimiento normalizado de operaciones
POE:	Procedimientos operativos estándar
PsF:	Agar Pseudomonas F
PsP:	Agar Pseudomonas P
SAL:	Nivel de aseguramiento de esterilidad
THIO:	Medio fluido Thioglicolato
TSA:	Agar de Tripticasa de soya
TSB:	Caldo digerido de caseína y soja
UFC:	Unidades Formadoras de colonias
USP:	Farmacopea de los Estados Unidos
UV:	Ultravioleta
WHO:	World Health Organization (Organización mundial de la salud)
XLD:	Agar Xilosa –Lisina – Desoxicolato.

RESUMEN

Las buenas prácticas de fabricación exige que los todos los laboratorios que manufacturan productos estériles, validen el proceso de llenado aséptico, por ello el objetivo del presente trabajo es validar el proceso de llenado aséptico (Prueba media Fill) para mantener el estado validado en el área de inyectables de un laboratorio Farmacéutico de fabricación de productos farmacéuticos estériles y asegurar que los productos fabricados cumplen con las especificaciones microbiológicas de esterilidad y que todo el proceso de llenado aséptico está bajo control y proporciona productos seguros y eficaces. El diseño de estudio es cuasiexperimental y el tipo de investigación es descriptivo correlacionar. Se utilizó el método de la "*media fills test*, tomando en cuenta las condiciones del peor caso de la línea de envase, haciéndose un análisis durante todo el proceso de llenado aséptico y al final de las unidades envasadas para ver la esterilidad. Los resultados que se obtuvieron en el llenado aséptico de las tres pruebas consecutivas cumplen con todos los parámetros y especificaciones asegurando la esterilidad en el proceso. Los resultados de la incubación de unidades cumplen con los criterios de aceptación conforme las normas establecidas por la BPM y OMS, y no se observa presencia de unidades contaminadas para tamaños de lote mayor a 10 000 unidades al análisis estadístico. Los resultados de la capacidad de proceso de las tres pruebas de volumen de envasado de medio de cultivo, el valor de C_p es > 1 , por lo tanto, se afirma que el proceso de llenado aséptico es capaz, reproducible y cumple con las especificaciones que se establecieron previamente. Por tanto, se concluyó que la validación del proceso de llenado aséptico (Prueba media Fill) en el área de inyectables es reproducible y da como resultados productos estériles y cumple con los criterios establecidos en el manual de Buenas Prácticas de Manufactura, por la Autoridad Nacional de Medicamentos.

Palabras clave: Validación, Llenado aséptico, productos farmacéuticos estériles.

SUMMARY

Good manufacturing practices require that all laboratories that manufacture sterile products validate the aseptic filling process, therefore the objective of this work is to validate the aseptic filling process (Medium Fill Test) to maintain the validated status in the area of injectables of a pharmaceutical laboratory for the manufacture of sterile pharmaceutical products and ensure that the manufactured products comply with the microbiological specifications of sterility and that the entire aseptic filling process is under control and provides safe and effective products. The study design is quasi experimental, and the type of research is descriptive to correlate. The "media fills test" method was used, taking into account the conditions of the worst case of the packaging line, making an analysis throughout the aseptic filling process and at the end of the packaged units to see the sterility. The results obtained in the aseptic filling of the three consecutive tests meet all the parameters and specifications, ensuring sterility in the process. The results of the incubation of units meet the acceptance criteria in accordance with the standards established by the BPM and WHO, and no presence of contaminated units is observed for batch sizes greater than 10,000 units to the statistical analysis. The results of the process capacity of the three-culture medium packaging volume tests, the value of C_p is > 1 , therefore, it is affirmed that the aseptic filling process is capable, reproducible and meets the specifications that were previously established. Therefore, it was concluded that the validation of the aseptic filling process (Medium Fill Test) in the area of injectables is reproducible and results in sterile products and meets the criteria established in the manual of Good Manufacturing Practices, by the National Authority of Medications.

Keywords: Validation, Aseptic filling, sterile pharmaceutical products.

INTRODUCCIÓN

Los Organismos reguladores como la Organización Mundial de la Salud (OMS), la Federación de alimentos y drogas (FDA), la Organización Internacional de Normalización (ISO), así como la Conferencia Internacional de Armonización (ICH), proveen requerimientos técnicos y obtener el registro de productos farmacéuticos. Asimismo, provee de requerimientos técnicos para los procesos críticos que existen en la fabricación de productos farmacéuticos en especial de productos estériles, y estos deben ser validados y controlados en el tiempo durante todo el proceso. La importancia de validar los procesos críticos que intervienen en la manufactura, es con el fin de obtener productos farmacéuticos de calidad que sean seguros y eficaces para el paciente.(1)

La FDA señala que cada industria farmacéutica, debe identificar qué procesos se deben validar e identificar los más críticos, con la finalidad de asegurar y demostrar documentariamente que se encuentran bajo control.

En el trabajo de investigación de la validación del proceso de llenado aséptico (Prueba Media Fill) se utilizó un medio de crecimiento (Caldo Digerido de caseína y Soya) en lugar del producto farmacéutico y se simula fielmente un proceso de fabricación habitual, simulando que el proceso se encuentra bajo control durante todo el proceso de llenado aséptico. El llenado aséptico no puede ser esterilizado en su envase final, por lo que se esteriliza por etapas (vial, producto, sistema envase cierre), por ello el producto está expuesto a superficies de contacto, sistema envase cierre, ambientes, personal. En consecuencia, el llenado aséptico (medio de cultivo) es incubado para detectar ausencia o presencia de microorganismos viables y demostrar la esterilidad. (2)(3)(4)

Se controló el proceso de llenado aséptico (PLLA) por ser un punto crítico, para ello se monitorean estrictamente los ambientales en los que se lleva el proceso, grados A, B y C, es fundamental que el llenado y sellado se lleven a

cabo en un entorno de muy alta calidad, además se controló el producto fabricado, filtrado y envasado para evaluar la esterilidad .(5)

Se sometió primero a métodos de esterilización por separado del proceso aséptico, el producto farmacéutico, el envase y el sistema cierre, según proceda; luego se trabajaron juntos, porque no hay un proceso para esterilizar el producto en su envase final, por ello cada uno de estos procesos de fabricación requiere la validación y el control, porque cada proceso podría introducir un error en esta última instancia y dar lugar a la distribución de un producto contaminado, por lo tanto, requiere de un control cuidadoso. (6)

En este sentido, la Dirección General de medicamentos y drogas (DIGEMID) estableció el manual de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), en su capítulo XXIX, de productos farmacéuticos estériles, los requerimientos que debe cumplir un producto que es elaborado por proceso de llenado aséptico y estos deben ser validados y controlados y contar con un programa de validación, dichos requerimientos deben ser cumplidos por todos los laboratorios farmacéuticos del Perú que fabrican productos farmacéuticos estériles. (7)

Los fabricantes de medicamentos estériles deben tener una aguda conciencia de las implicaciones de salud pública por la distribución de un producto no estéril y ser un riesgo para la salud, poniendo en peligro la vida de un paciente.

Por tal motivo se realizó el trabajo de investigación “Validación del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos estériles”, para asegurar que los productos farmacéuticos que se manufacturan en esta área puedan cumplir con las especificaciones microbiológicas de esterilidad y los estándares de calidad y seguridad declaradas en su registro sanitario.

CAPÍTULO I

1. GENERALIDADES

1.1 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.

Bajo el concepto de garantía de la calidad y aseguramiento de la calidad, las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), establece requerimientos para asegurar que los productos farmacéuticos, son fabricados en forma controlada y uniforme y dentro de los límites de calidad, estas reglamentaciones exigidas por el manual de BPM tienen como objetivo principal poder disminuir los posibles riesgos inherentes a toda fabricación de productos farmacéuticos, los cuales no pueden prevenirse completamente. Principalmente aquellos riesgos que pueden generar una contaminación cruzada y las confusiones. (8)

La Administración de Medicamentos y Alimentos (FDA) ha enfocado sus esfuerzos hacia la elaboración de políticas que han sido destinadas al estudio del proceso, más que a la del producto farmacéutico como tal. Lo cual fue rápidamente difundido y asimilado por las industrias farmacéuticas, ante la necesidad de contar con procesos de fabricación que estén estandarizados, estén comprobados y sean reproducibles. De esta manera se comenzó a apuntar hacia las actividades que son destinadas a la implementación de la calidad de los procesos, por ello nació el concepto de la validación de procesos. (9)

En la actualidad los productos farmacéuticos son cada vez más complejos, por estas razones no solo es suficiente realizar pruebas rutinarias al producto terminado y asegurar la calidad de este. Algunas pruebas para el producto terminado presentan una sensibilidad limitada, en muchos casos requieren de una prueba destructiva para garantizar que el proceso de fabricación es correcto, pero para otros productos termosensibles no puede ser aplicable este tipo de prueba porque pueden impactar con la seguridad y eficiencia del producto farmacéutico y no cumplir con su eficacia. (9)

La validación de procesos es un elemento importante para poder asegurar que se reúnan las metas de la garantía de calidad. Si bien es cierto la fabricación de productos farmacéuticos estériles es realizada en concordancia a requisitos bastante especiales, para poder reducir al mínimo todos los riesgos posibles de contaminación microbiana, como de por partículas extrañas y sustancias pirógenas, por lo que no solo dependen del diseño y la construcción o de las instalaciones, sino que dependen de los sistemas de apoyo crítico, así como de la habilidad y entrenamiento del personal que participa del proceso, entonces la garantía de calidad, se vuelve un factor de mucha importancia, porque, este tipo de fabricación sigue métodos y procedimientos estricta y estratégicamente establecidos y que son validados. (3) Así pues, uno de los procesos que son muy complejos en la industria farmacéutica, es la fabricación de medicamentos estériles por procesos de llenado aséptico. (9)

Por ello para garantizar la esterilidad de productos farmacéuticos que pretenden ser estériles, tanto la esterilización como el llenado aséptico y el cierre de las operaciones deben estar validados. (1) (2) Los estudios de validación, comprueban en condiciones extremas el sistema de estudio, similares a las que cabría esperar durante el proceso normal, todo con la finalidad de comprobar de que dicho sistema se encuentra bajo control una vez que el sistema o proceso se ha validado, siempre en cuando no se haya realizado cambios o modificaciones o por programación en el plan anual de validaciones, si fuera así habrá que efectuar una revalidación.

Se hacen la revalidación de procesos críticos de manera sistemática y en intervalos adecuados, con el fin de demostrar que el proceso se mantiene bajo control. Por tanto, la validación y mantenimiento del estado validado del proceso de llenado aséptico es un requisito regulatorio técnico importante a cumplir, con el cual se va a asegurar que el proceso es capaz de producir productos de buena calidad, eficaces y seguros, a través de evidencia documentada y que aporta un alto grado de seguridad de resultados dentro de las especificaciones previamente establecidas(4)

Por naturaleza se conoce que en un proceso donde interviene directa o indirectamente la mano del hombre, por lo habitual siempre tendrá variabilidades, los cuales van a ser imposibles de eliminar; no obstante, sí es posible controlarlas utilizando la identificación de puntos críticos. (10)

La calidad de un producto farmacéutico estéril se debe asegurar completamente, para poder cumplir con las exigencias sanitarias y la BPM con el fin de brindar un producto de calidad, seguro y eficaz a la población. Por lo tanto, la validación de procesos es indispensable, con la finalidad de poder asegurar que el proceso de fabricación se encuentra controlado y brinda productos de calidad y con ello contribuir a la mejoría del paciente. (10)

Razón por el cual el objetivo del presente trabajo de investigación fue realizar la validación del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos estériles con la finalidad de demostrar que los productos fabricados en el área cumplen con las especificaciones microbiológicas de esterilidad, y demostrar que el proceso de llenado aséptico se encuentra bajo control y proporciona productos de calidad y seguros para la población.

1.2 FORMULACIÓN DEL PROBLEMA.

¿Será posible validar el proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de fabricación de productos farmacéuticos estériles para que cumplan con las especificaciones microbiológicas de esterilidad y el proceso de llenado aséptico sea consistente y reproducible?

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo general

Validar el proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos estériles, con la finalidad de demostrar que el proceso de llenado aséptico es consistente y reproducible, y se lleva a cabo de acuerdo con las

especificaciones de calidad, obteniendo productos terminados que cumplan con los requisitos de esterilidad.

1.3.2 Objetivos específicos

1. Controlar los parámetros críticos del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio farmacéutico.
2. Evaluar la esterilidad de los productos envasados por proceso de llenado aséptico y verificar la ausencia de turbidez, durante y después de la incubación.

1.4 JUSTIFICACIÓN DE LA INVESTIGACIÓN

1.4.1 Conocimiento

El presente estudio aporta conocimientos respecto a la validación del proceso de llenado aséptico, así como para las industrias Farmacéuticas del Perú, puede ser aplicado como referente para la implementación de procesos asépticos y puedan cumplir con las exigencias actuales de las normativas establecidas por la OMS en su reporte 45 – Anexo N° 6 - Buenas Prácticas de Manufactura de Productos Farmacéuticos Estériles. (2) Asimismo, la Federación de Alimentos y Drogas (FDA), establece la Guía de las Buenas Prácticas de Manufactura para productos estériles producidos por procesamiento aséptico. (10) Por otro lado, la DIGEMID, estableció en el Decreto Supremo N.º 021-2018-SA, capítulo XXIX, artículos 29.1 al 29.192. (7) las Buenas Prácticas de Manufactura de productos estériles, que deben cumplir todos los laboratorios farmacéuticos nacionales que fabriquen productos estériles.

Además, el presente trabajo será una herramienta para el alumno universitario, de nuestra escuela profesional de Farmacia y Bioquímica de la UNSAAC, y pueda tener un mayor y conocimiento práctico de cómo se realiza la validación del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio farmacéutico.

1.4.2 Aplicabilidad

Para poder asegurar la esterilidad de los productos farmacéuticos estériles, se validan la esterilización, el sistema envase cierre y el proceso de llenado aséptico. (11) Mediante el diseño y la validación del control de procesos, un fabricante puede garantizar un mayor grado de confianza, y establecer de que todas las unidades envasadas, así como los lotes sucesivos serán aceptables y estarán dentro de la especificación. El éxito de una validación de un proceso va a disminuir la realización de pruebas intensas al producto terminado y en proceso. Se debe recalcar que, en la muchos casos, las pruebas realizadas al producto terminado juegan un papel preponderante para asegurar que se reúnan los objetivos de la garantía de calidad.(12)

1.4.3 Prioridad

La validación del proceso de llenado aséptico (Prueba Media Fill) es fundamental para que los productos farmacéuticos estériles termosensibles, sean inocuos desde un punto de vista microbiológico para humanos; además que la función farmacológica para la cual se diseñó a través de su principio activo no se vea alterada, por la contaminación durante el proceso de fabricación.

La validación del proceso de llenado aséptico es imprescindible antes de realizar la fabricación de productos farmacéuticos estériles en la línea de producción.

Mediante esta investigación se propone realizar la validación de llenado aséptico en el área de inyectables, para asegurar que el proceso es reproducible, consistente y obtener productos estériles que nos brinden la seguridad de la eficacia del proceso para el fabricante y el paciente.

1.5 HIPÓTESIS

Es posible la validación del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos estériles, que permitan obtener de manera consistente y reproducible productos farmacéuticos que cumplan las especificaciones microbiológicas de esterilidad.

CAPÍTULO II

2. MARCO TEÓRICO Y CONCEPTUAL

2.1 ANTECEDENTES

2.1.1 Antecedentes Internacionales

Aro M. Validación del proceso de llenado aséptico de soluciones parenterales de pequeño volumen. Universidad Mayor de San Andrés; 2014.

Su objetivo fue validar el proceso productivo de llenado aséptico de soluciones parenterales de pequeño volumen en la Droguería INTI S.A, con la finalidad de demostrar que el Llenado Aséptico se lleva a cabo conforme a las especificaciones, y se obtenga productos terminados que cumplan los requisitos de esterilidad. La metodología empleada fue la calificación de instalaciones, equipos y del personal, además la validación del proceso de llenado aséptico a través de la prueba de media fill con 3 pruebas repetidas y se monitorizo los ambientes, determinaron el peor de caso y se realizó capacitaciones y evaluaciones respecto al comportamiento del personal en áreas estériles. Los resultados y conclusiones demuestran que la validación de llenado aséptico mediante la prueba de Media Fill de los 3 lotes de 3,000 ampollas con medio de cultivo caldo Casoy después de la incubación a las temperaturas respectivas cumple con los parámetros para productos farmacéuticos estériles, por lo que se validó el proceso de llenado aséptico y quedo como evidencia para la empresa Droguería Inti. (13)

Fernández C, Moreno D, Arias J, Manuel J. Metodología para la validación de un llenado aséptico en un proceso de liofilización. Pontificia Universidad Javeriana; 2007.

El objetivo del estudio es la propuesta de metodología para la validación de un llenado aséptico en un proceso de liofilización. Como método emplearon 3 pruebas con 3 lotes de medio de cultivo de caldo casoy con 15 000 viales cada uno, los que se incubaron a temperaturas de $22,5 \pm 2,5$ °C y $32,5 \pm 2,5$

°C por 14 días, a fin de detectar contaminación de microorganismos viables durante el proceso. Para ello realizaron el monitoreo microbiológico de ambientes, superficies y operarios, sistema de envase cierre (tapones y viales). Los resultados que obtuvieron fueron presencia de turbidez (presencia de contaminación) en las ampollas envasadas, siendo estas no estériles por lo que no cumplieron con las buenas prácticas de manufactura. (9)

Ríos Afanador JP. Validación preliminar del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables del laboratorio Vicar Farmacéutica S.A. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de ciencias Carrera de Microbiología Industrial;2007.

El objetivo del estudio es la validación del proceso de llenado aséptico en el laboratorio de Vicar Farmacéutica S.A. se realizó a través de la media fill en las mismas condiciones normales de producción en las salas limpias de inyectables de la empresa. El método del estudio utilizó medio de cultivo caldo digerido de caseína y soya, por su baja viscosidad del medio, ya que simula productos de líquidos de viscosidad baja. Se consideró los parámetros de control de calidad del proceso y análisis microbiológico de puntos de muestreo establecidos durante las tres corridas, los parámetros son importantes para evaluar el cumplimiento con las exigencias de calidad por las Buenas Prácticas de manufactura de la norma colombiana con relación al cumplimiento de las buenas prácticas Buenas Prácticas de fabricación de productos estériles por medio de llenado aséptico en la sala de envase estéril. Se determinó los puntos críticos y el grado de confianza en cuanto a la esterilidad de los productos con los parámetros de validación cuantitativo y cualitativo que se obtuvieron, se demostró que el llenado aséptico cumple con la precisión, robustez, solidez y estabilidad del proceso. Se realizó la calificación de instalaciones del horno despirogenador encontrándose dentro de los parámetros de diseño de instalación, operacional se realizó sin carga alcanzando temperaturas de $250\text{ °C} \pm 15\text{ °C}$ y de desempeño se realizó sin carga, con carga (guantes y uniformes) y realizando inactivación de la endotoxina E. coli, los resultados son satisfactorios de los viales resultaron negativos de presencia de endotoxinas para LAL, el punto crítico del proceso se encuentra estéril

El llenado aséptico después de la incubaron las ampolletas de 2 mL frascos de 10 mL y 500 mL por 14 días en las temperaturas de 30 a 35 °C de bacterias; de 20 a 25 °C para mohos y levaduras para verificar el crecimiento de microorganismos. Los resultados obtenidos son la ausencia de contaminación en las ampolletas y los frascos, por tanto, el proceso cumple las características de esterilidad que fue diseñado y los muestreos microbiológicos demuestran que el proceso se encuentra bajo control de esterilidad en un 94.1% para el estudio de validación preliminar de llenado aséptico. (14)

De Giorgi I, Sadeghipour F, Favet J, Bonnabry P. Sterility validity period of vials after multiple sampling under vertical laminar airflow hood. J Oncol Pharm Pract; 2005.

El presente estudio tiene como objetivo validar el período en cuanto a esterilidad de viales después de múltiples muestreos bajo flujo laminar vertical de grado A capucha. La metodología fue frascos llenos asépticamente con un medio de cultivo estéril se muestrearon con jeringas tres veces por semana durante un mes bajo el Grado A vertical laminar flujo de aire y, mientras tanto, mantener los viales fuera de la cabina de flujo laminar vertical. En los resultados no se ha observado crecimiento microbiano. Sobre la base de estos resultados, se ha decidido actualizar procedimientos operativos estándar, permitir mantener los viales durante dos semanas en una caja fuera de las campanas de flujo laminar (ambiente temperatura Grado B) o cualquier ambiente controlado (bajo refrigeración). En conclusión, este estudio valida los múltiples usos de viales de pequeños a grandes volúmenes (5 mug /100 mL), para simplificar el manejo y reducir los costos de las unidades centrífugas de reconstitución citostática en las farmacias de los hospitales, sin riesgo microbiano.(15)

2.1.2 Antecedentes Nacionales

Medina H, Jara W. Validación de un sistema de tratamiento de agua grado inyectables. Universidad Mayor de San Marcos; 2003.

El objetivo del presente trabajo es establecer la evidencia de documentos que el sistema de tratamiento de agua inyectable cumple consistente con los parámetros de calidad establecidos previamente. Como metodología se elaboró aprueba y ejecuta el protocolo de validación, en la elaboran el protocolo de la calificación de instalación al sistema de tratamiento de agua para uso inyectable, calificación de operatividad y condiciones extremas (Stress). Se calculó los índices Cp.

En la calificación operativa cumple con los parámetros. La calificación funcional tiene un software de muestreo dividido en dos fases, que corresponde a muestreo exhaustivo, la primera fase tiene una duración de tres meses y segunda fase de muestreo con frecuencia estrecho con una duración de un mes; se le sometió a prueba al sistema tanto en condiciones reales como en condiciones extremas (stress), donde se evalúa cual es el rendimiento, cuando se producen situaciones como el corte de energía eléctrica por cambio de filtros o intencional. Se realizó un estudio estadístico de los resultados alcanzados en los análisis de pH, conductividad y recuento microbiológico, usando para dicho fin las gráficas de control x-R y los histogramas. Se realizó la evaluación del agua grado inyectable como producto final, se calculándose presión de ingreso en los equipos de ósmosis inversa 1 y 2 y los índices de Cp y Cpk para las pruebas de pH.

El presente trabajo de investigación demostró que el sistema de tratamiento de agua grado inyectable que su producto final agua para inyectable cumple con las especificaciones establecidas y se encuentra bajo control el sistema de tratamiento de agua grado inyectable. (16)

Leví E, Cotrina P, Portilla Lecca DM, Saavedra EFC. Validación del proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos de un Laboratorio Farmacéutico;2015.

El objetivo del estudio es demostrar que la validación del proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos del laboratorio farmacéutico del Perú.

Como método se hicieron a través de 3 pruebas repetidas de esterilidad, control fisicoquímico del medio a usar y control microbiológico de salas estéril a lo largo del proceso, para el cual se estableció un flujo grama de operaciones tomando en cuenta los puntos críticos, se tiene 3 etapas principales a controlar; la primera etapa previa del proceso de manufactura, la segunda etapa de fabricación y la tercera etapa de envasado. Los resultados y conclusión del estudio muestran que los controles fisicoquímicos y microbiológicos determinados en los productos en estudio los valores promedio se encuentran dentro de las especificaciones según a la USP, la sociedad Internacional de Ingeniera Farmacéutica (ISPE) “sistemas de agua y vapor”. Son conformes los puntos de muestreo del agua purificada en proceso de generación de agua, las características fisicoquímicas tienen un pH entre 6.61 a 6.64 y conductividad 0.82 a 0.86. Se evaluó la carga microbiana del producto a granel por debajo de 10 UFC/MI como bacterias mesófilas como de hongos y levaduras como establece el titular del producto, se realizó esta prueba para descartar contaminación futura en el área estéril. En cuanto al control ambiental de superficie, equipo y personal que participo se encuentran dentro de las especificaciones. En la etapa de envasado el análisis del producto de 5000 unidades envasadas cumple con el criterio de esterilidad.

Finalmente se verificó la conformidad mediante control de medios de cultivos, fisicoquímicos del ambiente, superficies y personal en las 3 etapas analizadas.(17)

Villegas campos JJ. Validación del proceso de esterilización por calor húmedo de solución isotónica inyectable cloruro de sodio 0.9% x 1000mL, Lima. Septiembre - Noviembre del 2007. Universidad Nacional de Trujillo; 2008.

El objetivo es determinar la esterilidad (SAL) del ciclo de esterilización para comprobar el buen funcionamiento de la autoclave. Como metodología se realizó la calificación de instalación (IQ), calificación de operación (OQ) donde se realizaron 3 pruebas sin carga de producto, teniendo como finalidad verificar el buen funcionamiento de la autoclave. La calificación de desempeño (DQ) donde se realizaron 3 pruebas con carga de producto,

ayudo en determinar los puntos más fríos para alcanzar la temperatura de esterilización, finalmente se realizó 3 pruebas de desafío; se usó indicadores biológicos IBs, con el objetivo de encontrar las unidades logarítmicas que logra reducir en el ciclo de esterilización. Se obtuvo una desviación máxima de temperaturas promedios menor a 2,5 °C, en cuanto a la penetración de calor a una temperatura de F105 °C es mayor a 105, 05 minutos, no llegando la temperatura de penetración el sensor 6 durante la tercera prueba obtuvo 104,7 pero no hubo crecimiento microbiano para el punto 6 y los demás puntos muestreados, por lo tanto, las pruebas son válidas. Según los resultados de biocarga supera un SAL de 10⁻⁶. El estudio dio como resultados y conclusiones que el proceso de esterilización cumple con la letalidad de los microorganismos de acuerdo a los límites del proceso de esterilización por calor húmedo.(18)

2.1.3 Antecedentes Locales

Ugarte L, Orccosupa J. Validación de procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica privada-Lima. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco;2020.

EL presente estudio tiene por objetivo la validación de los procesos de limpieza de equipos en el área de fabricación de productos líquidos no estériles. Se determinando el peor caso en función a activos, se determinó como peor caso el activo Prednisolona de acuerdo con su solubilidad, toxicidad y la dificultad de sanitización y limpieza de los tanques, primero se elaboró el protocolo para la validación de limpieza de los equipos. Se estableció los límites de aceptación para la Prednisolona. En cuanto al peor caso a equipos fue seleccionado el tanque de fabricación de 400L, con ayuda del método de “*clasificación y filtrado de riesgos (RRF)*”, se determinó siete puntos de muestreo con ayuda del método de “*Modo de fallo y Análisis de efectos (FMEA)*”.

La metodología que se utilizó para el estudio es por “*cromatografía líquida de alta resolución HPLC*” con 3 lotes consecuente, se usó también para cuantificar los restos de trazas presentes en las superficies de contacto con equipo. Se determinó el pH en el análisis cualitativo del agua de enjuague, la

conductividad y la de sustancias oxidables, en cuanto a el análisis microbiológico de los 7 puntos de muestreo utilizando medios de cultivo “*agar Trypticosa soya (TSA)*” para mesófilos viables y “*agar Sabouraud (ASAB)*” para hongos y levaduras.

Los resultados que se obtuvo infieren que el equipo tanque de 400 mL está libre de contaminantes, el límite de aceptación establecido para prednisolona es de IFA de 10ppm. Se obtuvo < a 10 µg/mL en la cuantificación de trazas de prednisolona sodio fosfato, la conductividad fue < a 1.3 µS/cm, el pH entre 5 a 7 y el en análisis microbiológico cumple con el criterio máximo 20 UFC/25 cm² para bacterias y ausencia de hongos y levaduras.

Llegando a la conclusión que el estudio de validación de limpieza del equipo demostró que la limpieza y sanitización es efectiva para eliminación de restos de activos, detergentes usados para la limpieza y compuestos orgánicos, de esta manera garantiza que los equipos para fabricar productos no estériles representan riesgo de contaminación cruzada que afecte la integridad del producto farmacéutico.(19)

Luque S, Rosa M. Diseño de proyecto de un sistema de gestión de calidad de un laboratorio productor de oxígeno y validación del proceso productivo de oxígeno medicinal en aerosol. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco; 2012.

El objetivo fue diseñar un “*Proyecto de un Sistema de Gestión de la Calidad de un laboratorio productor de oxígeno, y la validación concurrente del proceso productivo de oxígeno medicinal en aerosol*”. La metodología del estudio es de tipo descriptivo y prospectivo. La población estuvo compuesta por 14 personas que forman parte del “*Sistema de gestión de la calidad*” las cuales están distribuidas en áreas operativas y administrativa. Para la validación se trabajó en tres lotes consecutivos de producción de oxígeno medicinal en aerosol.

En cuanto al diagnóstico del laboratorio, fue realizado mediante los siguientes: El análisis FODA para determinar las fortalezas, oportunidades, debilidades y amenazas del personal, luego se identificó los procesos importantes con el método de Ranking, seguidamente se evaluó el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) por parte del personal realizado con una autoinspección tomando en cuenta los criterios de las BPM y se revisó el

sistema en cuanto a documentos del sistema de calidad. Se realizó la validación de proceso de producción de oxígeno verificando el cumplimiento de las especificaciones y política del laboratorio, con referencia a las “*Buenas Prácticas de Validación*” y las especificaciones de la USP 34 para producción oxígeno medicinal. Personal administrativo y personal en la producción y el producto final, son representados con listas de conformidad individual, colectiva y cartas de control. Como resultado se obtuvieron las brechas que existen en el laboratorio y para establecer las estrategias para la mejora, de igual manera se implementaron un plan de sistema de gestión de la calidad, con un diseño a laboratorio de producción de oxígeno medicinal, implementando los POS, el manual de calidad y formatos nuevos. Con respecto a la validación concurrente, se obtuvo resultados donde muestran que los 3 lotes, están dentro de especificaciones establecidos por la empresa, Se obtiene una evidencia documentada de alto grado de certeza de que el proceso productivo de oxígeno es capaz de cumplir de forma consistente y repetitiva. Detallado en el informe de validación. Concluyendo que el proyecto de un sistema de gestión de la calidad y la validación del proceso productivo de oxígeno favorece en cuanto la calidad del producto y la mejora continua. (20)

2.2 BASES TEÓRICOS Y CIENTIFICAS

2.2.1 VALIDACIÓN

Es una evidencia documentada el cual proporciona un alto grado de certeza de que un proceso, procedimiento, método, equipo o sistema producirá consistentemente un resultado dentro de las especificaciones previamente establecidas. (21)

También se puede definir como una acción que demuestra de manera documentada de que un proceso, equipo, material y sistema conduce a resultados previstos. (8)

Los estudios de validación van a verificar que el sistema objeto de estudio bajo condiciones de pruebas extremas parecidos a las que se pretende esperar durante el proceso de llenado, con el fin de comprobar que el

sistema se encuentra bajo control, siempre y cuando no se hagan cambios. Pero si se producen modificaciones o algún problema, o se sustituyera un equipo, la ubicación, se tendrá que realizar la revalidación. Los equipos y procesos más críticos se revalidan de manera sistemática a intervalos programados con el fin de demostrar que el proceso se encuentra bajo control. (5)(22)

Según el Informe 45.OMS. 2011, se validan:

- Sistemas dentro de ellos: Agua, aire y vapor, etc.
- Procesos, como: la producción de líquidos y llenado aséptico, etc.) (2)

2.2.1.1 TIPOS DE VALIDACIÓN

Desde el punto de vista tradicionales:

- La validación prospectiva
- La validación retrospectiva
- La validación concurrente

Desde el punto de vista de actual en el primer mundo:

- La validación esbelta.
- La validación en tiempo real (21)

a) Validación prospectiva

Se define como una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto, apoyado en resultados derivados antes de que el producto implicado en ese proceso salga al mercado. Ello permite que la empresa reduzca su nivel de riesgo antes de liberar el producto al mercado. Se aplica para aquellos procesos nuevos y es la más conveniente por su enfoque preventivo (21)

Por ejemplo, se puede aplicar cuando una solución estéril envasada con una pieza nueva de equipo, esta no puede ser liberada hasta que no se haga una validación prospectiva del Llenado aséptico debido a que carece de datos históricos y por las limitaciones de las pruebas de esterilidad, estas no pueden garantizar la esterilidad del lote, por ello la validación prospectiva es prácticamente la excelente alternativa cuando se integran nuevos equipos. Conforme a la Asociación de Fabricantes Farmacéuticos

(PMA), es el método más universal para la validación de procesos estériles. (23)

b) Validación retrospectiva

Se define como una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está pretendido apoyado en resultados obtenidos en información histórica del producto implicado con el proceso.

Este tipo de validación actualmente es la más débil por lo que la mayoría de las entidades regulatorias ya no lo consideran válida, debido a su poco enfoque preventivo. (21)

c) Validación concurrente

Está definida como una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto apoyado en resultados derivados, paralelo a la distribución del producto que está inmerso en el proceso y puede aplicarse bajo dos enfoques: para productos nuevos, donde se libera un producto al mercado sin tener aun la validación completa. Para el caso de productos antiguos, que se puede liberar porque se ha trabajado mucho tiempo y se sabe su comportamiento y en algunos casos no se puede parar la producción para validar el proceso y se prosigue con la producción normal y solo se considera ciertos lotes para que formen parte del estudio de validación. (21)

d) Validación esbelta

Se define como una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto basado en resultados que consideran en su estudio la identificación de atributos críticos de calidad por lo que este tipo de validación se basa en lo sustancial del proceso, dicho concepto nace de la industria a fin de cumplir sin necesidad de salirse de los límites. Con los nuevos enfoques en los que se enfatiza la calidad por diseño y la importancia del desarrollo farmacéutico y la identificación de aquellos factores que son realmente los afectan la calidad del mismo, designados atributos críticos de calidad, dichos atributos críticos se emplean para el desarrollo de la validación. Por cuanto si es posible relacionar la validación de tipo prospectiva y la concurrente con la validación esbelta. (21)

e) Validación en tiempo real

Está definida como una evidencia documentada de que un proceso hace lo que está previsto apoyado en los resultados obtenidos de lote a lote.

Este concepto también de aplicación reciente refleja hacia donde se tendrá que migrar tarde o temprano.

2.2.1.2 COMITÉ DE VALIDACIÓN

Las nuevas perspectivas regulatorias que ya no es posible trabajar en forma independiente. Los enfoques sistémicos que incluyen a la industria farmacéutica empujan a compartir responsabilidades, pero también las responsabilidades con los otros departamentos. El cumplimiento de las BPM ya la validación va en ese sentido. Durante mucho tiempo se creía que la responsabilidad solo recaía en el departamento de control de calidad, sin embargo, al no ser una tarea sencilla se creó el departamento de validación recayendo en ellos la responsabilidad de los resultados obtenidos. Hoy en día, se ha entendido que la validación no la hace un solo departamento o una sola persona, en el éxito o fracaso de la validación participan todos los departamentos del área técnica, recordando que la validación esta implícita en la calidad.

El comité está conformado por al menos por un representante de cada área técnica y todos deben estar capacitados en sus funciones y tener bastante práctica y poder llevar a cabo de manera satisfactoria las actividades encomendadas. (21)

2.2.1.3 PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN

Es un documento que va a establecer la filosofía y la estrategia a utilizar por cada una de las empresas para ejecutar todas las actividades implicadas con la validación.

El PMV va a incluir un cronograma en el que la empresa indica que actividades y con que recursos lograra sus objetivos. (22)

2.2.1.4 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN

Es un documento que se tiene que revisar y autorizar antes de que sea ejecutado, donde se describe las pruebas y sus criterios de aceptación. En cuanto se completada la prueba tanto el protocolo como los resultados nos

van a servir de base para documentar y ver si el proceso funciona según lo previsto.

Elaboración de protocolos:

El protocolo debe incluir como mínimo lo siguientes:

- Código de identificación y la versión
- Alcance, para ver qué es lo que se va a evaluar un proceso, equipo, sistema o área.
- Objetivos: Conteniendo la primera evaluación o la revalidación.
- Responsabilidades se debe especificar las responsabilidades que deben tener cada miembro que conforma el comité técnico.
- Resumen de todas las características del proceso a evaluar.
- Recursos que se van a utilizar, por ej. Materiales.
- Diagrama de flujo.
- Los criterios de aceptación: Especifico para el proceso a evaluar.
- Se debe planear y programar de cuando se llevara a cabo
- Mantenimiento del estado validado, donde se va a los distintos programas de apoyo y revalidación y recalificación
- Referencia a documentos como los de producción
- Hoja de firmas de elaboración, revisión y autorización.
- Anexos. (22)

2.2.1.5 REPORTE DE VALIDACIÓN

Es el documento que va a contener los resultados obtenidos y el análisis de estos, las no conformidades detectadas, las investigación y las conclusiones necesarias, como también sugerencias, y la fecha de próxima revalidación, este documento debe hacer referencia cruzada al protocolo.: (22)

2.2.1.6 ACTIVIDADES DE CALIFICACIÓN

▪ **Calificación.** - Es la evidencia documentada que va a proporcionar un alto grado de certeza, de que un equipo, un área va a producir consistentemente un resultado dentro de las especificaciones anticipadamente establecidas.

Según el Informe 45.OMS. 2011 (2), se validan:

- Equipos
- Materiales
- Áreas

Como se puede observar la calificación toma como base la definición de la validación, por lo que la calificación esta sobrentendida en la validación. Las actividades de validación es proceso de varias etapas previas y son los siguientes:

- a) Preparación del Plan Maestro de Validación.
- b) Las pruebas de aceptación.
- c) La calificación del diseño de la planta.
- d) La calificación de las áreas.
- e) La calificación de sistemas.
- f) La calificación de todos los equipos de producción.
- g) La validación de los procesos de limpieza.
- h) La validación de los sistemas computarizados

No se puede continuar con la siguiente etapa, si no se cuenta con una opinión favorable de la etapa anterior, además que hay ciertas actividades críticas que realizar como pre -requisitos como la calificación. (21)(22)

▪ **Requisitos previos a la validación:**

Antes iniciar con la validación del proceso se deben calificar tanto los equipos de fabricación como los instrumentos de control, sin obviar las de formulación. Se deben validar los servicios de importancia crítica como el agua, el aire, el nitrógeno y el suministro de corriente eléctrica, además de las operaciones de apoyo que son la limpieza del equipo y los locales. Se debe realizar capacitaciones continuas al personal. Todos estos requisitos previos son fundamentales para una validación exitosa. (23)

Se tienen que calificar equipos (por ejemplo: autoclaves, hornos, lavadoras, túneles, mezcladores, dosificadores de polvo/agua, módulos de flujo laminar) y sistemas críticos (por ejemplo: HVAC, aire comprimido y agua para inyectables) involucrados en la esterilización, manufactura, filtración, llenado y sellado del llenado aséptico simulado deben estar calificados en cuanto a su diseño (si aplica), instalación, operación y desempeño (si aplica). Se debe contar con procedimientos normalizados de operación (PNO) aprobados para

el lavado, esterilización, armado, uso y mantenimiento de los equipos involucrados en el llenado aséptico simulado. La documentación correspondiente a la prueba llenado aséptico, debe estar previamente aprobada, y el personal que participa en esta prueba debe estar previamente capacitado. (24)

2.2.1.7 ACTIVIDADES DE VALIDACIÓN

De acuerdo con la secuencia de etapas indicadas en el punto anterior 2.2.1.6 del presente trabajo una vez que se cuenta con todos los equipos materiales y áreas calificadas, se puede comenzar con las actividades relacionados con la validación de procesos. Por lo tanto, solo se podrá comenzar con las actividades de validación de proceso cuando se hayan completado satisfactoriamente los requisitos anteriores. (21)

2.2.1.8 VALIDACIÓN DE PROCESOS

La Administración de Medicamentos y Alimentos, define la validación como:

“La validación de procesos consiste en establecer evidencia documentada que proporcione un alto grado de aseguramiento sobre un proceso específico en el cual constantemente se elabore un producto que reúna sus especificaciones y características predeterminadas de calidad”. (23)

La validación de procesos es una obligación para cumplir con las BPM, por lo que la validación tiene mucha aplicabilidad en general en diversos campos como la industria farmacéutica de productos estériles y proporcionan un grado de certeza de que un proceso es controlado. (25)

La validación permite:

- Nos permite conocer a fondo los procesos y va a disminuir los riesgos por lo que garantiza que el proceso que se esté realizando se ejecute sin contratiempos.
- Disminuye los costos.
- Disminuye los riesgos incumplir con los reglamentos.
- Un proceso perfectamente validado puede requerir de menos controles durante el proceso, por tanto, menos pruebas al producto final. (23)(26)

2.2.1.9 VALIDACIÓN DE LLENADO ASÉPTICO

Los productos asépticos tienen dos formas de liberarse al mercado por:

- Esterilización terminal.
- Llenado aséptico.

El proceso de esterilización terminal se considera la más segura, sin embargo, muchos componentes, como materias primas, materiales de envase primarios, pueden sufrir alteraciones ante las condiciones a las que son sometidos como parte de la esterilización, por lo que tienen que omitirla del proceso. (2)(27)

Para dar confiabilidad a sus productos, se tiene que llevar a cabo la validación a través de pruebas de llenado aséptico simulado.

La validación del proceso del proceso de llenado aséptico o “Media Fill Test” es una simulación de que un proceso aséptico en donde el producto es sustituido por un medio de cultivo (3)

Tiene por objeto demostrar que la capacidad del proceso puede producir productos estériles en condiciones de operación frecuente y cumpliendo con las BPM. (28)

La ANMAT 3827/2018 en el Anexo 1, señala los lineamientos para la ejecución:

“la prueba de simulación del proceso debe imitar, lo más exactamente posible, el proceso de fabricación aséptica habitual e incluir todas las fases críticas posteriores a la fabricación. Esta prueba de simulación también debe tener en consideración las diversas intervenciones conocidas que se produzcan durante la fabricación habitual, así como las situaciones de peor caso”. (28)

Los estudios de simulación de procesos (rellenos de medios) simulan todo el proceso con el fin de evaluar la confianza en la esterilidad del proceso. Los estudios de simulación de procesos incluyen la formulación (composición), la filtración y el relleno con medios de cultivo. Se realizan simulaciones para asegurar que el proceso de lote comercial produce repetida y confiablemente el producto final con la calidad requerida. Sin embargo, cada simulación de proceso es único y por lo tanto no es posible

extrapolar estos resultados directamente a la producción real. Los métodos para simular un proceso aséptico varían según el proceso utilizado para los diversos tipos de productos, es decir, la dosificación líquida, semilíquida y sólida. (2)

El contenedor sellado con el medio de cultivo es incubado para detectar algún tipo de contaminación por microorganismos viables. Los resultados que se obtengan se interpretan para determinar el potencial de que una unidad envasada del producto que llegue a contaminar durante las operaciones (arranque, adición de ingredientes estériles, conexiones asépticas, llenado, sellado, etc.); por otra parte, los datos del monitoreo ambiental obtenidos del proceso simulado pueden proveer información útil para la evaluación. (27)

La simulación de proceso aséptico (a veces denominada relleno de medios) es una herramienta útil para evaluar la capacidad de las actividades de procesamiento aséptico. Para que los resultados sean significativos, el control de fabricación, actividades de mantenimiento, sistemas de calidad, elaboración de procedimientos, control ambiental, monitoreo ambiental, cumplimiento estricto de la técnica aséptica, y controles de intervención deben estar en su lugar. Simula el proceso aséptico desde el punto de esterilización de productos y componentes al cierre del envase (incluyendo cualquier proceso / manejo etapas posteriores al sellado que podrían afectar la integridad del envase), sustituyendo el producto estéril con un medio de crecimiento microbiológico. La simulación del proceso aséptico también proporciona un medio para la evaluación de los cambios en el proceso aséptico que podría afectar la esterilidad del producto final. Puede ser útil para identificar posibles debilidades en un proceso aséptico que podría contribuir a la contaminación microbiológica del producto durante el procesamiento. (25)

La validación de una operación de procesamiento aséptico debe incluir simulaciones de proceso aséptico microbiológico en lugar del

producto. Esta simulación de proceso aséptico normalmente incluye exponer el medio de crecimiento microbiológico a las superficies de equipos, sistemas de cierre de contenedores, entornos críticos e intervenciones de procesos, simular la misma exposición que el propio producto sufrirá. (25)

El procesamiento aséptico tiene como objetivo mantener la esterilidad de los productos que son unidos a partir de sus componentes que previamente se ha esterilizado. Las condiciones de operación deberían ser tales como para evitar la contaminación microbiana. Con la finalidad de conservar la esterilidad de cada uno de los componentes del procesamiento aséptico y se debe tener controlado:

- El medio ambiente (Salas limpias)
- El personal involucrado
- Las superficies más críticas
- Envase / cierre de la esterilización
- La etapa de retención máxima del producto farmacéutico antes de llenar en el envase final
- El filtro de esterilización

Las soluciones que no se pueden esterilizar en su contenido final, pueden ser filtrados a través de un filtro estéril con un tamaño de poro nominal de 0,22 micras o menor, para la retención de microorganismos, en un recipiente anteriormente esterilizado. Estos filtros pueden retener bacterias, mohos, sin embargo, no pueden retener todos los virus o las micoplasmas. Debería considerarse la contingencia de complementar el proceso de filtración con algún método de tratamiento térmico o una segunda filtración con un filtro más pequeño. Por tanto, la filtración sola, no es suficiente si se puede realizar la esterilización en su envase final. De los métodos disponibles en la actualidad, la esterilización por vapor es preferible. (11)

Debido a los riesgos potenciales agregados del método de filtración en balance con otros procesos de esterilización, se puede hacer un doble filtro esterilizado seguidamente del primer filtrado. Se recomienda que la

filtración estéril final debe ser llevado a cabo lo más cerca posible al punto de envasado. (25)

Las fibras de los filtros deben tener las características de derramamiento mínimo es decir prácticamente cero. No se recomienda el uso de filtros que contengan asbestos de ninguna manera. Además, la integridad del filtro esterilizado debe ser efectuada antes del uso mediante un método apropiado como puede ser el método de punto de burbuja. El resultado de estos controles debería ser incluido en el registro del lote. La integridad de los filtros críticos de ventilación de gas y aire debe estar demostrado después del uso de este y debe realizarse la prueba a intervalos adecuados. Debería considerarse la posibilidad de una mayor supervisión de cómo está la integridad del filtro sobre todo en procesos que implican duras condiciones. (11)

2.2.2 DISEÑO PARA LAS PRUEBAS DE LLENADO ASÉPTICO

2.2.2.1 REALIZAR LA ESTERILIZACIÓN

Se debe realizar la esterilización de cada uno de los componentes que intervienen en el proceso como los equipos de envasado, las salas, los materiales, equipos y personal que se encuentra en el area de procesamiento Aséptico (APA). La validación del proceso aséptico debe contener una auditoria exhaustiva a todos los componentes que son parte del proceso así como a los proveedores externos que suministran materiales esterilizados se les debe pedir que faciliten cada uno de los detalles de los de validación estéril, porque cualquier componente que pueda ser esterilizado debe realizarse la esterilización y no solo la desinfección (10)

a) Esterilización de componentes

Las actividades de esterilización de los materiales involucrados en el Dosificado Aséptico Simulado incluyen el esterilizado y despirogenado (entendiendo como despirogenado al proceso utilizado para eliminar pirógenos, por ejm. las endotoxinas) de viales y ampollitas de vidrio, así como tapones de goma, es decir materiales que se encuentren en contacto directo con el producto. Estos materiales son convencionalmente esterilizados a través de esterilizadores de vapor, hornos de calor seco o

túneles. La calificación de estos sistemas es sencilla tomando en cuenta que actualmente los equipos cuentan con sistemas de control automatizado, reduciendo así la variación debida a la manipulación humana. (24)

b) Esterilización de equipos

El objetivo del equipo de esterilización es eliminar los microorganismos de las superficies de los materiales directamente involucrados en el proceso. Los procedimientos de esterilización usados en la preparación de productos dosificados asépticamente emplean métodos por calor húmedo y calor seco en autoclaves y hornos o túneles respectivamente, las etapas anteriores forman parte del proceso aséptico y su objetivo depende en gran medida de la capacitación del operador. Las superficies de los dispositivos que tengan relación directa con el producto que se está esterilizando o con el sistema contenedor – cierre esterilizado, deben ser estériles para no alterar al medicamento. En un proceso aséptico es importante validar el proceso usado para esterilizar componentes críticos (sistema contenedor – cierre) así como el método empleado para esterilizar el medicamento. La esterilidad de los equipos involucrados en el procesamiento Aséptico normalmente debe ser mantenida por esterilización de estos entre cada lote y con estricto apego a los métodos asépticos de manera tal que la esterilidad del entorno se conserve. (24)

c) Esterilización del producto

Para la esterilización de la mayoría de los productos que se pretenda sean estériles, se requiere contar con procedimientos de filtración por membrana; la filtración puede realizarse justo antes del llenado en el envase final (de esta manera pueden emplearse filtros sobre la línea de llenado), los PNO correspondientes deben ser claros y precisos. (24)

2.2.2.2 REALIZAR LA DESINFECCIÓN

Se debe realizar la desinfección tanto de las paredes, los pisos, los equipos y los otros ítems que están involucrados en el APA los cuales deben ser desinfectados antes y removidos después del uso. (10)

Esto le va a permitir al laboratorio conservar un nivel mínimo aceptable de contaminación. Uno de los métodos eficientes es el fogueo con gas desinfectante de formaldehído a través de los ductos, muchas empresas de procesamiento aséptico emplean este método a diario. Otro método bastante eficiente es el uso de desinfectantes, generalmente los de tipo fenólicos, amonios cuaternarios, aldehídos, peróxidos y haluros y se realizan mediante la limpieza manual y de manera rotativa para no generar resistencia de los organismos. Debe haber personal instrumentado para que realice el procedimiento (10) Para el caso de equipos que no se pueden esterilizar por los métodos indicados como son los equipos eléctricos y electrónicos, las balanzas y las baterías, la desinfección de estos equipos todavía debe ser más exhaustiva por ser un potencial de contaminación microbiana. (10)

2.2.2.3 EMPLEAR EL PEOR CASO

Una técnica útil en la validación de procesos farmacéuticos es el empleo del “peor caso”. El uso de las situaciones de “peor caso” pretende desafiar el proceso bajo condiciones que puede estar en el borde de las condiciones normales de funcionamiento. Si, en las circunstancias del peor caso, se logran resultados aceptables, entonces hay mayor confiabilidad del sistema bajo condiciones más rutinarias. (25)

El peor caso no significa la creación de condiciones artificiales o ambientes que exceden las condiciones de funcionamiento permitidas y que pueden forzar un fallo del sistema. Las condiciones de los peores casos varían dependiendo de las operaciones o del riesgo que se esté considerando.

Por ejemplo, ejecutar el área de procesamiento aséptico utilizando el número máximo de personal puede ser el peor caso en ciertos momentos como el personal vestido es la mayor fuente de contaminación microbiana en un proceso aséptico, mientras que en otras situaciones en el peor caso puede incluir la ejecución del proceso con menos personas.

Para identificar el peor caso debe realizarse una evaluación del área del procesamiento aséptico que cubra las variables relevantes y su impacto microbiológico en el proceso. (11)

Se deben simular exactamente posible a las operaciones rutinarias y se debe incorporar actividades e intenciones que suelen suceder a lo largo de la producción habitual, así como la situación de peor caso, teniendo en cuenta factores tales como:

- ✓ La complejidad de las operaciones en el proceso
- ✓ El tamaño de lote a validar
- ✓ El número de operarios que participan en el proceso.
- ✓ El sistema de envase cierre (Vial, tapones).
- ✓ Los ensambles, conexiones y desconexiones asépticas en el montaje y durante el proceso.
- ✓ El tiempo de duración del proceso, como la velocidad de la línea.
- ✓ Ver la fatiga de los operarios en función a horas de trabajo.
- ✓ Establecer los puntos críticos como la temperatura, la humedad, las presiones diferenciales y el nivel de partículas, durante el monitoreo ambiental.
- ✓ Establecer las intervenciones normales, las atípicas, y los eventos no programados, como puede ser el ingreso para el mantenimiento, o para hacer muestreos, cambios de turno de los operarios o para hacer ajustes del equipo y otros (7)

2.2.2.4 REALIZAR LA DOCUMENTACIÓN

La documentación es un elemento importante de un programa de validación de procesos de llenado aséptico, ya que sirve como un registro de la justificación de la simulación, y su rendimiento. Posteriormente este registro puede ser de ayuda en investigaciones de fallas de esterilidad, así como para el examen de la adecuación de los organismos reguladores. Por lo tanto, los estudios de simulación de procesos deben estar bien documentados. (25)

La documentación proporciona instrucciones para la realización del estudio, los criterios de aceptación del estudio, referencias históricas, los resultados del estudio, y la prueba de que se llevaron a cabo los estudios. La documentación debe incluir procedimientos, investigaciones desviación del protocolo, informe final, y unidad de Investigaciones positivos que son revisados y aprobados por la Unidad de Calidad.

Una política de simulación de proceso aséptico global o procedimiento presenta los requisitos para la programación, la realización y documentación de estudios de simulación de procesos. Esto incluirá la razón de ser “el peor caso” recipiente y configuración de la línea, la intervención y la etapa de proceso de inclusión, y re-evaluación de la frecuencia.

Un plan maestro también puede ser desarrollado para presentar los requisitos y la justificación de la realización de estudios para un producto, la instalación, o la línea de fabricación específico. (11)

2.2.2.5 ESTABLECER LAS FRECUENCIA Y NÚMERO DE PRUEBAS

Cuando una línea de producción de inyectables es inicialmente calificada, debemos asegurarnos de que sea repetitivo las pruebas (3 veces como mínimo) de llenado aséptico de tal forma se pueda asegurar que los resultados son confiables y consistentes, esto es importante porque una sola prueba no se considera concluyente, en cambio varias pruebas pueden arrojar resultados divergentes e identificar de que el proceso está o no bajo control, por tanto se recomienda realizar a menos tres pruebas con resultado exitoso durante el proceso de calificación, y estos deben ser programados de manera semestral para ser controlados. (10) Las intervenciones rutinarias y atípicas que pudieran generarse deben ser incorporados dentro del diseño del programa de calificación semestral, además el solo el personal involucrado en el proceso está autorizado para ingresar al procesamiento aséptico, un personal de, fabricación mantenimiento y envasado deberán participar en el llenado aséptico al menos una vez al año, conforme a las funciones que realizan. (5)

Cuando se realice un cambio ya sea del producto o de una se debe ejecutar y consignándolo en el sistema de control de cambios y debe estar por escrito, todo cambio que es considerado como un potencial que puede afectar la capacidad del proceso del llenado aséptico y eliminar la contaminación del producto farmacéutico esterilizado tiene que ser evaluado por la prueba media fill y si fuera necesario de más pruebas y cualquier cambio en el proceso debe ser causa para una nueva validación del sistema de validación . (5)

Si los resultados de la prueba Media Fill indicasen que el proceso puede no estar bajo control, se debe realizar una investigación para identificar el origen de la contaminación y los procesos que afecta. En cuanto se hayan hecho las correcciones después de la identificación del problema, se deben realizar las pruebas de simulación del proceso de llenado aséptico para confirmar que verdaderamente las deficiencias que existía se han corregido y que el proceso ha vuelto a un estado bajo control. (10)

2.2.2.6 ESTABLECER LA DURACIÓN DE LAS PRUEBAS

Cuando se realiza el diseño de la prueba media fill, la duración de cada una de las operaciones del proceso de llenado aséptico es una consideración principal, porque este es lo que va a simular lo más estrechamente posible todas las operaciones que intervienen en la producción. Se debe establecer la duración de la prueba considerando el tiempo que lleva incorporar manipulaciones como intervenciones y teniendo en cuenta la duración verdadera de una operación habitual del proceso de llenado aséptico. (10)

A pesar de que actualmente la mayoría de las líneas de fabricación son automatizados y estas funcionan a altas velocidades y están diseñadas para limitar la intervención del personal, aún existen procesos que todavía incluyen la participación de un personal de manera considerable durante el proceso. Si el procesamiento aséptico utiliza aun el llenado o cierre de forma manual, o en caso haya manipulaciones extensas, se debe considerar la duración de la simulación del proceso y este no debe ser menor que la del proceso de fabricación habitual, de tal forma simular de mejor manera los riesgos de contaminación que pueda introducir el personal. (3)

2.2.2.7 ESTABLECER EL TAMAÑO DE PRUEBA

El tamaño de las pruebas del proceso de llenado aséptico debe ser adecuados de tal forma se debe imitar las condiciones de producción de lotes industriales y evaluar el potencial de contaminación, por ello el número de unidades envasadas durante la simulación del proceso de llenado aséptico tiene que estar basado en enfoques preventivos y en el

riesgo de contaminación y deber ser suficiente para simular lo más fielmente posible las actividades que son representativas en la fabricación. El tamaño aceptable está dentro del rango de 5.000 a 10.000 unidades, en el caso de tamaños de producción por debajo de 5.000 unidades el número de unidades envasadas del procesamiento aséptico deben ser iguales por lo menos al tamaño máximo del lote en la línea de procesamiento. (10) Si la probabilidad de contaminación es más alta basada en el diseño del proceso como el llenado manual por ejemplo se debe considerar un número más grande de unidades y representen el tamaño total de lotes industriales. (3)

Es así que estos factores deben ser periódicamente evaluados y tener un mayor cuidado a la hora de diseñar la simulación, de tal forma identificar el riesgo potencial que puede estar asociado a la operación más larga. (27)

Con respecto al tamaño apropiado de la prueba en relación con el tamaño del lote de producción, se requiere una clasificación diferente de acuerdo con cada rango de tamaño de lote (N es el tamaño del lote producido).

El número envasado para la prueba debe ser suficiente necesario para permitir que la evaluación sea válida.

En caso de lotes pequeños el número de envases para llenado aséptico debe simular e igualar el tamaño real de lote de producción. Los criterios de aceptación de acuerdo con la Tabla N°1. (7)

TABLA N° 1
CRITERIOS DE ACÉPTACIÓN DE ACUERDO CON CADA RANGO DE TAMAÑO DE LOTE.

Tamaño de lote de producción (Número de envases llenados)	Recomendación
Menos de 5000 unidades	No se deben detectar unidades contaminadas
5000-10 000 unidades	1 unidad contaminada debe resultar en una investigación, incluida la consideración de un llenado repetido de medios. 2 unidades contaminadas se consideran motivo de revalidación tras la investigación.
Más de 10000 unidades	1 unidad contaminada da lugar a una investigación. 2 unidades contaminadas se van a considerar motivo de revalidación tras la investigación.

Fuente: Adaptado del Manual de Buenas Prácticas de Manufactura de productos Farmacéuticos 2018. (7)

2.2.2.8 ESTABLECER LA VELOCIDAD DE LA LÍNEA

En el proceso de llenado aséptico (prueba Media Fill) debe seguir de manera adecuada con los rangos de las velocidades de la línea que se emplean durante la producción habitual y cada prueba de evaluar o seguir una sola velocidad de línea y la velocidad que es elegida deberá estar justificado. Ejm: el empleo de una línea que presenta mayor velocidad es usualmente el más apropiado cuando se va a realizar la evaluación de un proceso de fabricación, que se caracteriza por tener más intervenciones de manera frecuente o con un alto grado significativo de la manipulación manual. Sin embargo, el empleo de líneas de velocidad lenta, son apropiados para poder evaluar aquellos procesos de fabricación que tienen una exposición prolongada en el área aséptica, tanto del producto farmacéutico estéril y del sistema envase cierre. (10)

2.2.2.9 EVALUAR LAS CONDICIONES AMBIENTALES

El proceso de llenado aséptico (prueba Media Fill) debe representar lo suficientemente todas las condiciones en la cual las operaciones actuales de fabricación son llevadas a cabo. Una evaluación errónea (haciendo que el proceso parezca más aséptico de lo que usualmente es) puede resultar a conducir a una prueba Media Fill con datos erróneos y no ser reproducible. Por ello es muy importante que la prueba Media Fill tenga que incluir desafíos semejantes a las operaciones habituales, de tal forma apoyar la validez los estudios realizados. Las condiciones de stress no deben incluir condiciones ambientales extremos creados artificialmente, para poder funcionar en límites de las peores condiciones, por el contrario deben ser llevados a cabo en las mismas condiciones de un proceso habitual. (27)

2.2.2.10 ELECCIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO

Por lo general se usa el caldo digerido de caseína y soja por ser un medio de crecimiento microbiológico. Pero dentro del estudio se debe considerar el empleo de medios de crecimiento para microorganismos anaerobios, como puede ser el medio líquido Tioglicolato. Los medios que se seleccionan deben ser evaluados de tal forma permitan el crecimiento tanto de bacterias Gram positivas, Gram negativas, como de levaduras y mohos, por ej. organismos indicadores grado USP. El area de Control de Calidad debería determinar si los organismos indicadores de la USP representan adecuadamente los aislamientos que estén relacionados con la producción. De la prueba de esterilidad como del monitoreo ambiental, los aislamientos podrían ser sustituidos o incluidos en la prueba de desafío de promoción de crecimiento, para el cual las unidades de la prueba de promoción de crecimiento deberán ser inoculadas con un desafío de <100 UFC. Si estas pruebas de promoción de crecimiento fallan, se deberá investigar el origen de la contaminación que se encontró durante la simulación y repetir precisamente la prueba Media Fill. (1)

Para ello el proceso de fabricación debe ser fielmente simulado usando los medios de crecimiento y las condiciones que optimicen el descubrimiento de cualquier tipo de contaminación microbiana. Las unidades envasadas deben ser llenadas con un medio de cultivo apropiado y la cantidad suficiente para que haga contacto con el interior del envase inmediato y el sistema envase cierre, al momento de que sea invertido el envase. y permitir la detección visual del crecimiento microbiano. (1) (25)

2.2.2.11 ESTERILIZACIÓN DEL MEDIO DE CULTIVO.

Para el proceso de llenado aséptico, el medio de cultivo elegido para las pruebas deberá ser esterilizado por medio de la esterilización por filtración o por la esterilización por vapor. Cuando se realice la Esterilización por filtración, este va a requerir que la solución de medio de cultivo se filtre a través de un filtro con poro de 0.21- μm y recepcionando a un contenedor que se debe esterilizar previamente. Una de las mayores dificultades que presenta este método, mayormente se debe a que en la mayoría los medios de cultivo son mezclas de varios materiales naturales y muchos de estos componentes son sólidos insolubles, que estarán presentes en la mezcla. (4) Por otro lado la esterilización terminal en el que se usa una autoclave (Proceso con vapor) para esterilizar el medio de cultivo en su envase final. Este tipo de procedimiento de esterilización terminal va a reducir la necesidad de la manipulación post-esterilización, que podría comprometer la esterilidad del medio de cultivo. En algunos casos algunas empresas realizan procedimientos adicionales como es la pre-incubación del medio de cultivo, antes de empezar la prueba, de tal manera pueden asegurar que el medio de cultivo es estéril antes de ser envasado. (27)

2.2.2.12 INCUBACIÓN Y ANÁLISIS DE LAS UNIDADES DE LLENADO ASÉPTICO

Se debe realizar la incubación de manera adecuada siguiendo las normativas, de tal forma nos permitan evidenciar aquellos microorganismos que podrían ser difíciles de cultivar. Para ello, se debe establecer las condiciones de incubación como sigue:

- La temperatura requerida para la incubación debe ser conveniente para poder realizar la recuperación de la carga microbiana y los respectivos aislamientos ambientales y por ningún motivo estarán fuera del rango de $20-35^{\circ}\text{C} \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ de la temperatura requerida. (10)
- El tiempo de incubación no deberá ser menor a 14 días. En el caso de se usen dos temperaturas de incubación, estas deberían ser incubadas durante 7 días al menos para cada temperatura. En algunos casos optan por iniciar primero por la temperatura más alta y luego con la temperatura más baja (hongos y levaduras), pero se recomienda iniciar con la temperatura más baja la de hongos y levaduras y seguidamente llevarla a temperatura alta la de incubación para bacterias. (23)

La inspección de las unidades envasadas debe ser llevado a cabo por personal capacitado y calificado, de tal manera le permita detectar y reconocer unidades contaminadas con mayor facilidad, para ello también se recomienda en le caso de que el envase sea oscuro sea reemplazado por envases claros que tengan las mismas propiedades físicas, de esta manera identificar la posible contaminación microbiológica, si es posible, se recomienda el uso de otros métodos que puedan asegurar la inspección visual, como equipos de inspección visual automatizados. (10)

Al momento de realizar la inspección de las unidades envasadas con medio de cultivo, se deberá a proceder con su incubación inmediata. Por otro lado, las unidades que puedan presentar defectos que no están relacionados con la integridad como un defecto cosmético, pueden seguir siendo incubadas, mientras las que presenten defectos de integridad deberán ser rechazadas, en el caso ocurra una confusión de unidades rechazadas erróneamente, estas deben ser devueltas puntualmente para la incubación. (10)

Una vez que la incubación está en proceso y se identifique unidades dañadas estas deben ser consideradas en los datos de prueba, porque estas unidades podrían ser representativas antes de que el producto farmacéutico sea liberado al mercado. En el caso de que se tome la decisión de excluir estas unidades incubadas que no cumplen con la

integridad, de los datos de la prueba final, deberán ser totalmente justificadas y estar explicado dicha desviación en los informes de la prueba Media Fill. En el caso surgiera una dificultad al momento de discernir entre un posible daño o una contaminación microbiana, se deberá implementar una investigación escrupulosa para poder determinar la causa. Para ello la información de este tipo de inconvenientes debe estar escrito de manera clara y específica por ej. se pondrá la intervención, la cantidad de unidades que fueron removidas, asegurando de esta manera, prácticas de fabricación consistentes durante el proceso de la prueba Media Fill. (10)

Las unidades envasadas pueden ser examinados de manera periódica durante los 14 días. En el caso de que exista unidades contaminadas deben ser registradas y deben ser examinadas meticulosamente, de tal modo evidenciar daños, dichas unidades dañadas no deben ser considerada en la evaluación de los resultados. (23)

Cuando exista una contaminación en la prueba Media fill, debe ser considerado como indicativo de un problema de esterilidad potencial, sin necesidad de tener en cuenta el tamaño de muestreo realizado de la prueba. Los resultados de la prueba media fill deberán ser confiables y reproducibles, dando como resultado unidades estériles y que asegure un buen procesamiento aséptico. Actualmente el diseño apropiado de instalaciones modernas de procesamiento aséptico han demostrado niveles de contaminación cerca a cero, lo que usualmente produce ninguna unidad contaminada durante la prueba. (23)

La tasa de contaminación para cada prueba se determina así:

$$\% \text{contaminación} = \frac{\text{N}^\circ \text{ unidades con crecimiento}}{\text{N}^\circ \text{ unidades envasadas} - \text{N}^\circ \text{ unidades dañadas}} \times 100$$

Fuente: Food and Drug Administration FDA 2004

2.2.3 MANTENIMIENTO DEL ESTADO VALIDADO

2.2.3.1 PROGRAMA DE APOYO O SOPORTE

El mantenimiento del estado validado se garantiza a través del cumplimiento de los programas de soporte, los cuales deberán estar establecidos con anterioridad a las actividades de validación y ejecutarse de acuerdo a lo programado.

- a) Capacitación y calificación de personal.
- b) Manejo de No conformidades
- c) Limpieza y sanitación
- d) Sistema de calibración
- e) Control de cambios
- f) Sistema de auditorías técnicas
- g) Monitoreo ambiental
- h) Revisión anual de producto

2.2.3.2 REVALIDACIÓN

Se define como una repetición de las actividades necesarias para corroborar el mantenimiento del estado validado.

Para las revalidaciones se generan protocolo y se les dará el mismo tratamiento que una evaluación inicial.

Los criterios de evaluación de revalidación se basan en dos aspectos:

- Por tiempo o programados
- Por cambios

a) Revalidación por tiempos

Los criterios de evaluación por tiempos son los que quedan establecidos en el Plan Maestro de Validación en forma global y en cada protocolo y reporte en forma específica. Son los que por su naturaleza podemos planear. En las validaciones en procesos asépticos se recomienda que la vigencia no sea mayor de dos años. De acuerdo con las recomendaciones por BPM indica que la revalidación son cada 6 meses.

b) Revalidación por cambios

Aplica cuando hay alguna modificación a las condiciones bajo las cuales se ejecutaron la validación o modificación de los programas de soporte, se tendrá que realizar el control de cambio y se decidirá si se realiza una revalidación en función de la evaluación efectuada al cambio.

Algunos cambios que pudiera afectar el mantenimiento del estado validado son:

- Cambios en las características de las materias primas (densidad, viscosidad, tamaño de partícula, entre otros).
- Cambio de fabricante de principio activo.
- Cambios en el proceso (tiempos de calentamiento o mezclado, velocidad de agitación, orden de adición, entre otros).
- Cambios de equipo (por otro igual, por otro del mismo edificio y fundamento, cambio de equipo semiautomático a automático, entre otros).
- Cambios de áreas (en el mismo nivel, en el mismo edificio, en otra planta, de diferente calidad de aire, de diferente diseño, entre otros).
- Cambios en la regulación Sanitaria. (21)

2.2.4 ESTERILIZACIÓN

Se debe adoptar el método de esterilización de acuerdo con lo establecido en las referencias farmacopeicas y se debe prestar una especial atención en el caso de que el método usado, no sea especificado en una referencia farmacopeica (29)

Todos los procesos de esterilización deben ser validados. Antes de decidir el tipo de esterilización que se va a emplear, se debe demostrar la idoneidad y la eficacia del método que se pretende emplear para el producto de esta manera lograr la esterilización deseada. El periodo de validez del proceso de esterilización tiene que ser verificado a intervalos periódicos, cada 1 año, siempre en cuando no se haya introducido alguna modificación importante.

Además, la carga microbiana en los materiales de partida debe ser muy mínima, por lo que debe ser monitoreada antes de la esterilización y estar dentro de las especificaciones determinadas previamente. (7)

Se debe tener en cuenta que todos los registros de esterilización deberán estar disponibles en cada prueba de esterilización y deberán estar aprobados como parte del procedimiento de liberación de lotes.

El uso de la esterilización por el método de filtración (0.22 micras), es solo posible si se trata de la fabricación de un producto termolábil y mediante el proceso de llenado aséptico. (29)

a) Esterilización por calor húmedo

Este tipo de esterilización terminal por calor es usado fundamentalmente para soluciones acuosas, en las que las condiciones de operatividad se llevaran a cabo por lo menos a 121 °C durante 15 minutos. Puede emplearse otras combinaciones tanto de tiempo y temperatura siempre en cuando se demuestre, que el proceso garantiza una buena reproducibilidad y reduce el nivel de letalidad en procesos habituales. Además, se debe garantizar que el vapor usado para el proceso de la esterilización sea puro y no contenga aditivos y evitar la contaminación del producto o el equipo. (29) Para ello se evaluará la calidad del vapor a través de análisis fisicoquímicos, microbiológicos y la prueba de endotoxinas. (7)

b) Esterilización por calor seco

Este tipo de esterilización se basa fundamentalmente en la circulación de aire dentro de una cámara, donde se mantiene una presión positiva, que impide el ingreso de aire no estéril. El aire que se suministra pasa por un filtro que retiene microorganismos. En el caso se desee también eliminar pirógenos, se debe efectuar la prueba de endotoxinas. (7)

Para el caso de esterilización terminal, el proceso se debe llevar a cabo al menos a 180 °C por 2 horas, también se pueden usar otras combinaciones tanto de tiempo como de temperatura. Cuando se realice el proceso de despirogenización de materiales se debe realizar a 220 ° C por 30 minutos,

y se podrá demostrar una reducción de 3 log de endotoxinas que son resistentes al calor. (27)

c) Esterilización por filtración

Algunos productos farmacéuticos estériles que por su naturaleza no pueden ser esterilizados en su envase final, pueden ser esterilizados a través de un filtro estéril con un tamaño de poro de 0.22 micras o de menos tamaño. Mediante estos filtros pueden eliminarse tantos hongos, bacterias, sin embargo, no todos los virus y micoplasmas, por ello se debe ver la posibilidad de realizar un segundo proceso de filtración, con un tipo de tratamiento térmico, debido a que el producto está expuesto durante el proceso, lo que no ocurre en otros métodos de esterilización de esterilización en su envase final , por ello se recomienda el uso de un filtro de doble capa o pueda realizarse una segunda filtración, con algún tipo de filtro que retenga microorganismos antes del envasado. Se recomienda que la filtración final estéril se realice lo más cerca posible al punto de envasado. Por ningún motivo se usará filtros de material de asbesto o que desprendan fibras. (7) (27)

Por otro lado, se debe realizar la prueba de integridad del filtro, antes y después de la esterilización mediante un método adecuado por ej. La prueba de punto de burbuja. Se debe establecer el tiempo que se requiere para filtrar un volumen conocido, y si existiera alguna diferencia de presión a ser usada durante la filtración, será determinado en la validación, y si hubiera diferencias significativas, estas han de registrarse y deben ser investigadas. Para el caso de la filtración de gases críticos y filtros de venteo, la prueba de integridad del filtro se realizará después de su uso. Se debe tener en consideración que no se debe emplea el mismo filtro durante más de un día de trabajo a menos que se demuestre la inocuidad mediante la validación.

Un filtro se selecciona conforme a la compatibilidad con el producto a filtrar viendo las características del proceso como son por ejemplo el volumen del producto a filtrar, el rango de flujo, la presión diferencial, la temperatura y las características químicas. (29)

Se debe disponer siempre de la documentación certificada que proporciona el fabricante del filtro y ver la capacidad de retención microbiológica que tiene dicho que se pretende emplear. (7) (27)

2.2.5 PRODUCTOS ESTERILES

La producción de productos estériles debe realizarse en áreas limpias clasificadas, donde se debe garantizar por el diseño de la instalación, el acceso controlado a las áreas de producción.

Las operaciones de preparación de materiales, preparación del producto, llenado y esterilización deben realizarse en salas separadas dentro del area limpia clasificada y que están ubicadas secuencialmente de tal forma que no se cruce los flujos de materiales, productos y personal. Cada operación de producción debe exigir un nivel de limpieza del ambiente en condiciones de operación, esto con el fin de disminuir los riesgos de contaminación microbiana o de partículas del producto o de los materiales que se están manipulando. (27)

Las áreas limpias destinadas a la producción de productos estériles deben clasificarse, según las características exigidas del aire, en grado A, B, C y D. Se debe contar con métodos de muestreo para partículas viables y no viables con fundamento técnico y científico. En la Tabla N° 2 se muestra la clasificación de partículas en el aire para las áreas limpias. (7)

TABLA N° 2
CLASIFICACIÓN DE PARTÍCULAS EN EL AIRE PARA LAS ÁREAS LIMPIAS UTILIZADAS EN LA PRODUCCIÓN DE PRODUCTOS ESTÉRILES

Grados	"En reposo" ^a		"En operación" ^b	
	Número máximo permitido de partículas / m ³			
	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	no definida	no definida

Fuente: Manual de Buenas Prácticas de Manufactura 2018. (7)

Leyenda:

* "El estado "en reposo" es la condición donde la instalación está en completa con el equipo instalado y operando acorde a las condiciones establecidas por el laboratorio".

* "El estado "en operación" es la condición donde la instalación funciona en modo operativo definido y con el número de personal específico presente".

Clasificación de áreas: Grado o clase A, deberá tomarse una muestra de 1m³ por cada punto muestreado, se realizara pruebas de visualización de flujo de aire para demostrar la uniformidad del flujo de aire unidireccional y así poder alcanzar la clasificación de grado B, C y D, por tanto, el número de cambios de aire serán establecidos en función a la dimensión del área, como al número de operario que trabajan en el mismo lugar y proceso , generalmente se requieren como mínimo, 20 cambios de aire / hora. El sistema tanto de calefacción, ventilación como del aire acondicionado deben estar provistos de filtros de muy alta eficiencia o filtros HEPA. (7)

El informe 45 de la OMS indica que, *“para la fabricación de preparados farmacéuticos estériles, se distinguen cuatro grados de áreas limpias”* como sigue:

- **Grado A:** esta es la zona para aquellas operaciones que representan alto riesgo, como es el proceso de llenado aséptico como de las conexiones asépticas. Habitualmente, dichas condiciones se consiguen a través del uso de flujo de aire unidireccional, y estos deben proporcionar una velocidad de aire homogénea de 0,36 - 0,54 m/s (valor orientativo) en una posición de prueba definida de 15 a 30 cm por debajo del filtro terminal o del sistema distribuidor de aire. La velocidad a nivel de trabajo no debe ser inferior a 0,36 m/s. La uniformidad y la eficacia del flujo de aire unidireccional deben demostrarse realizando pruebas de visualización del flujo de aire.
- **Grado B:** En la preparación y llenado asépticos, este es el ambiente de fondo para la zona de Grado A.
- **Grados C y D:** Áreas limpias para realizar etapas menos críticas en la fabricación de productos estériles o realizar actividades en las que el producto no esté expuesto directamente (conexión aséptica con conectores asépticos y operaciones en sistema cerrado). (30)

2.2.6 ACABADO DE PRODUCTOS ESTÉRILES.

Los recipientes deben ser cerrados mediante métodos debidamente validados. Contenedores cerrados por fusión, por ejemplo, vidrio o ampollas de plástico, deben estar sujetos a pruebas de integridad al 100%. Las muestras de los demás recipientes deberán comprobar la integridad de acuerdo con los procedimientos adecuados. El sistema de envase cierre para viales llenados asépticamente, no es completamente integral hasta que la tapa de aluminio ha sido ajustada en su sitio sobre el vial taponado. Prensado de la tapa debe, por lo tanto, llevarse a cabo tan pronto como sea posible después de la inserción de tope. Como el equipo utilizado para sellar las tapas en frascos viales puede generar grandes cantidades de partículas no viables, el equipo debe estar situada en una estación separada equipada con extracción de aire adecuada. (27) El Frasco vial tapado puede llevarse a cabo como un proceso aséptico con tapones esterilizados o como un proceso limpio fuera del núcleo aséptico. Cuando este último enfoque que se adopte, los viales deben ser protegidos por las condiciones de grado A hasta el punto de salir de la zona de procesamiento aséptico, y a partir de entonces viales taponados debe estar protegido con un grado A de suministro de aire hasta que la tapa ha sido sellada. Los viales con tapones perdidos o desplazados deben ser rechazados antes de tapado. Cuando la intervención humana se requiere en la estación de protección, la tecnología apropiada se debe utilizar para evitar el contacto directo con los viales y para minimizar la contaminación microbiana. (11)

Las barreras de acceso restringido y aisladores pueden ser beneficiosa en asegurar las condiciones requeridas y minimizar intervenciones humanas directas en la limitación de operación. Los contenedores sellados al vacío deben ser probados para el mantenimiento de ese vacío después de un período predeterminado apropiado. Los contenedores llenos de productos parenterales deben ser inspeccionados individualmente para evitar toda contaminación extraña u otros defectos. Cuando la inspección se realiza visualmente esto debe realizarse en condiciones adecuadas y controladas de iluminación y el fondo.

Operadores de hacen la inspección deben pasar controles periódicos de la vista, usando lentes correctivos personales (por ejemplo, gafas o lentes de contacto) según sea necesario, y se les permita descansos frecuentes de inspección. (11)

CAPÍTULO III

MÉTODOLOGÍA

3.1 MATERIALES E INSTRUMENTOS

3.1.1 Equipos

- Flujo laminar (Filtración): Marca Changyuan Technology Ind.
- Autoclave: Marca Horner Vap 5001 Pharma
- Lavadora ultrasónica vertical: Marca Truiking
- Túnel de Despirogenado y secado: Marca Truiking
- Envasadora y selladora de ampollas: Marca Truiking
- Flujo laminar (Recepción ampollas/viales): Marca Changyuan Technology Ind
- Flujo laminar (Envasadora): Marca Changyuan Technology Ind.
- Flujo laminar (Ingreso envasadora): Marca Changyuan Technology Ind.
- Flujo laminar (Producto): Marca Changyuan Technology Ind.
- Equipo Inspector de ampollas: Marca Romelag
- Sartocheck para integridad de filtro: Marca Sartorius
- Estufa de 20° C – 25° C: Marca Ética Ethik
- Estufa de 30° C – 35° C: Marca Ética Ethik
- Tanque Presurizador x 50 L: Marca no aplica
- Tanque de 50L: Marca no aplica

3.1.2 Materiales

- Ampollas de vidrio tipo A
- Balones de vidrio de 20 L estériles
- Porta filtro de 293 mm
- Mangueras de silicona y accesorios estériles
- Filtro de 0.22um
- Placas rodac
- Alcohol etílico al 70 %.

3.1.3 Reactivos y soluciones

- Medio de cultivo caldo digerido de caseína y soja irradiado.
- Agua para inyectable
- “Solución de medio de cultivo caldo digerido de caseína y soja”

3.1.4 Instrumentos mecánicos-eléctricos

- Termohigrómetro digital calibrado (sala de fabricación): Marca Control Company
- Termohigrómetro digital calibrado (sala de envasado): Marca Control Company

3.1.5 Suministro de apoyo crítico

- Sistema de agua grado inyectable.
- Sistema de aire comprimido para el funcionamiento de la envasadora.
- Sistema de vapor puro para los procesos de esterilización.
- Sistema de electricidad para el funcionamiento de equipos.

3.2 DISEÑO METODOLÓGICO

3.2.1 Ubicación y tiempo

Ubicación: La validación de llenado asépticos se llevó a cabo en las salas limpias del laboratorio como se describe en la Tabla N° 3 denominada, la línea de envase de soluciones estériles de la planta de producción de pequeño volumen, que está ubicada en el segundo piso del edificio B de Planta 1 del Laboratorio Farmacéutico, en la ciudad de Lima – Perú.

Tiempo: Se realizó en un periodo de dos meses.

**TABLA N° 3
SALAS LIMPIAS DE LA PLANTA DE PRODUCCIÓN DE PRODUCTOS
ESTÉRILES**

SALA
Sala limpia de fabricación
Sala limpia de filtración

Sala limpia de envasado
Sala limpia de recepción de ampollas
Sala de lavado de ampollas

Fuente: Elaboración propia.

3.2.2 Tipo de investigación y diseño metodológico

El tipo de investigación es descriptivo correlativo, se describe detalladamente el proceso de llenado séptico tomando en cuenta el peor caso y se correlaciona con los resultados de los productos estériles.

El diseño metodológico de la investigación es un estudio cuasi experimental, se pudo manipular una variable independiente durante la investigación, los sujetos no se asignan al azar a los grupos ni se emparejan, sino que los grupos ya están formados; los grupos son intactos, están formados antes del experimento.

Transversal descriptivo, la investigación se realizó en un momento dado único, se midió cada uno de ellos independientemente y se realizó la descripción detallada.

3.2.3 Diseño de la investigación

G1	X1	O1
G2	X2	O2
G3	X3	O3

G1: Grupo 1, es el lote 1 de ampollas de envasado.

G2: Grupo 2, es el lote 2 de ampollas de envasado.

G3: Grupo 3, es el lote 3 de ampollas de envasado.

X1: Proceso de llenado aséptico primera prueba (indicadores de las variables: Fabricación, sistema de envase – cierre, condiciones ambientales, peor caso del proceso de envasado y productos estériles).

X2: Proceso de llenado aséptico segunda prueba (indicadores de las variables: Fabricación, sistema de envase – cierre, condiciones

ambientales, peor caso del proceso de envasado y productos estériles).

X3: Proceso de llenado aséptico tercera prueba (indicadores de las variables: Fabricación, sistema de envase – cierre, condiciones ambientales, peor caso del proceso de envasado y productos estériles).

3.2.4 Universo, población y muestra

a) Universo

Todos los productos estériles tipo solución que se envasan en las líneas de envase del laboratorio farmacéutico.

b) Población

Los productos estériles tipo solución en ampollas que se envasan en la línea de Envase.

c) Muestra

El tipo de solución que se envasa es solución de medio de “*cultivo de caldo digerido de caseína de soja*”, que simula a la solución de un producto para solución inyectable. La cantidad para envasar es de 2mL.

3.2.5 Tamaño de muestra

El tamaño de muestra a procesar es de 11000 ampollas, envasado con “*solución de medio de cultivo de caldo digerido de caseína y soja*”.

3.2.6 Tipo de muestreo

El muestreo es de tipo intencional al 100 % que el criterio de aceptación de cero unidades contaminadas, por lo que la inspección se realiza el 100% de las ampollas envasadas (11000 unidades de ampollas envasadas).

3.2.7 Criterios de selección

a) Criterios de inclusión:

Ampollas que presenten las siguientes características: Ampollas envasadas con medio de cultivo, ampollas integrales, ampollas

envasadas con medio de cultivo con un rango de volumen de 1.90 mL – 2.10 mL. El volumen a envasar de 2 mL para asegurar que la solución del medio de cultivo este en contacto con la totalidad de superficie interna de la ampolla.

b) Criterios de exclusión

Ampollas que presenten las siguientes características:

- ✓ Ampollas quebradas
- ✓ Ampollas con rajadura
- ✓ Ampollas sin contenido
- ✓ Ampollas con volumen bajo
- ✓ Ampollas con puntos negros
- ✓ Ampollas con partículas
- ✓ Ampollas con presencia de películas de vidrio
- ✓ Ampollas con defecto de sellado.

3.3 IDENTIFICACIÓN DE VARIABLES

3.3.1 VARIABLES INDEPENDIENTES

3.3.1.1 LLENADO ASPETICO

Indicadores:

3.3.1.1.1 Fabricación

Subindicadores:

a) Bioburden del medio de cultivo

Definición: Número total de microorganismos viables que pueden estar presentes en insumos o materiales de partida y productos intermedios. La biocarga no se debe considerar contaminación a menos supere los límites establecidos o el tipo de microorganismos definidos como objetables. (2)

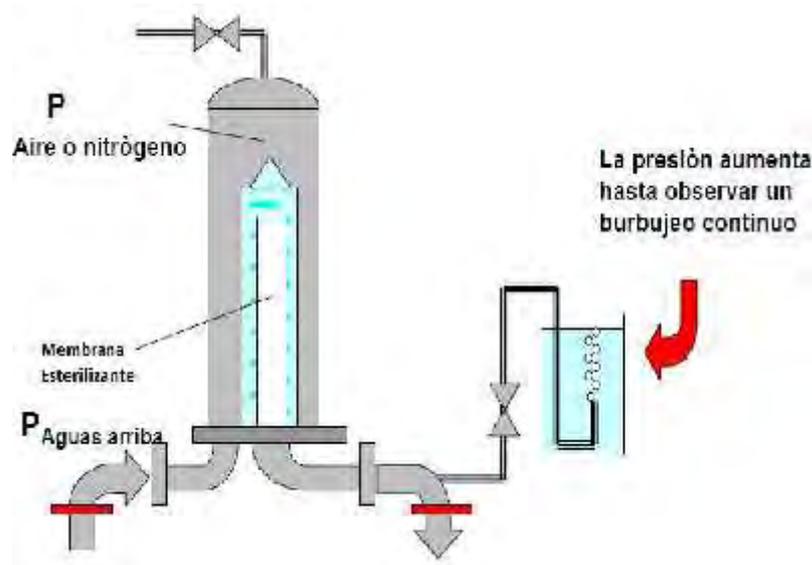
- Tipo de variable es independiente.
- Naturaleza es cuantitativa.
- Forma de medición es directa.
- Escala es continuo
- Instrumento utilizado es un contador de colonias

- Expresión final de la variable: Máximo 50 UFC/40 mL (31)

b) Integridad de los filtros de esterilización

Definición: El ensayo de integridad de los filtros es un ensayo no destructivo, realizado en un filtro de membrana para verificar si su comportamiento está de acuerdo con sus especificaciones (filtro sin defectos). Se realizó mediante la prueba de punto de burbuja como se muestra en la Figura N° 1 y se observa que cuando la presión alcanza la presión de punto de burbuja, el agua es expulsada del poro de mayor tamaño y se observa un burbujeo continuo.(32)

FIGURA N° 1
PRUEBA DE PUNTO DE BURBUJA



Fuente: Adaptado de ISPE junio, 2011.(33)

- Tipo de variables es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es intervalo
- Instrumento utilizado Sartocheck

- Expresión final de la variable: mbar (De acuerdo con el certificado de calidad de la membrana de filtro) 3450 mbar- 4500 mbar (Anexo N°1)

c) Esterilidad del medio de cultivo

Definición: Se realiza la prueba de esterilidad al medio de cultivo indica como resultado satisfactorio el no crecimiento de microorganismos contaminantes. (2)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cualitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es nominal
- Instrumento es observacional
- Expresión final de la variable: Estéril /No estéril (presencia o ausencia de crecimiento en el medio de cultivo) (34)

d) Promoción de crecimiento del medio de cultivo

Definición: "Procedimiento que hace referencia a la Prueba de Promoción de Crecimiento de Organismos Aerobios, Anaerobios y Hongos en Pruebas de Esterilidad <71> para demostrar que los medios usados en ensayos de llenado aséptico son capaces de promover el crecimiento de microorganismos indicadores." (35)(36)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es ordinal
- Instrumento se usa ontador de colonias
- Expresión final de la variable: Buen crecimiento (+) pobre crecimiento (+/-) negativo crecimiento (-) (35) (36)

Indicadores:

3.3.1.1.2 Sistema envase-cierre

El sistema envase cierre son los componentes de cualquier parte del envase incluidos el envase y cierres (tapón), los cuales estos materiales son convencionalmente esterilizados a través de esterilizadores de vapor, hornos de calor seco o túneles.

Subindicadores:

a) Esterilidad de las ampollas

Definición: Se realiza la prueba de esterilidad al medio de cultivo indica como resultado satisfactorio el no crecimiento de microorganismos contaminantes.(34)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cualitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es nominal
- Instrumento es observacional
- Expresión final de la variable: Estéril / No estéril (34)

b) Despirogenización de las ampollas

Definición: La eliminación de todas las sustancias pirogénicas incluyendo las endotoxinas bacterianas, y se logra generalmente por separación o inactivación. Las endotoxinas bacterianas constituyen el pirógeno más significativo y en la mayoría de las situaciones el más resistente. Puesto que las condiciones requeridas para la destrucción de endotoxinas destruirán otros pirógenos, en este tipo de estudios se acepta el término despirogenización en su generalización.(37)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es intervalo
- Instrumento es indicadores

- Expresión final de la variable: Prueba de sensibilidad del pyrotell > 0.5 λ y < 2 λ
(+) Presenta gel firme al invertir 180°
(-) No presenta gel firme al invertir 180°(37)

Indicadores:

3.3.1.1.3 Condiciones ambientales para el llenado aséptico

Se realiza el monitoreo ambiental para demostrar el cumplimiento del procedimiento de limpieza y sanitización de las salas limpias, en la prueba permite detectar partículas en el aire y control microbiológico de las salas limpias. Se realizó el control durante las operaciones simuladas.

Subindicadores:

a) Monitoreo ambiental por exposición de placas en la sala de fabricación

Definición: “*Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado*”. (24) Por exposición de placas expuestas (90 mm) en la superficie por 4 horas. (7)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es continuo
- Instrumento se usó contador de colonias
- Expresión final de la variable: Unidades Formadoras de Colonias (UFC)
Grado C: Max.50 UFC/placa
Grado D: Max.100 UFC/placa (38)

b) Monitoreo ambiental por exposición de placas en la sala de lavado de ampollas

Definición: “*Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado*”. (24) Por exposición de placas expuestas (90 mm) en la superficie por 4 horas. (7)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es continuo
- Instrumento se usó contador de colonias
- Expresión final de la variable: Unidades Formadoras de Colonias (UFC)
Grado C: Max.50 UFC/placa
Grado D: Max.100 UFC/placa (38)

c) Monitoreo ambiental por exposición de placas en la sala de envasado

Definición: “*Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado*”. (24) Por exposición de placas expuestas (90 mm) en la superficie por 4 horas. (7)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es continuo
- Instrumento se usó contador de colonias
- Expresión final de la variable: Unidades Formadoras de Colonias (UFC)
Grado A: < 1 UFC/ placa
Grado B: Max. 5 UFC/placa
Grado C: Max.50 UFC/placa (38)

d) Monitoreo ambiental por muestreo volumétrico de aire en la sala de envasado.

Definición: “*Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado*”. (24) Por muestreo volumétrico, donde se tiene el equipo (colector de gérmenes aéreos MAS100) El muestreo volumétrico es realizado para medir la cantidad de microorganismos viables suspendidos que no pueden ser detectados en exposición de placas, placa de TSA sobre el soporte del equipo, hasta que indique una luz roja de finalizado, se incuba por 48 horas de 30-35°C y ver el conteo de bacterias y por tres días a más de 20 a 25°C y hacer el conteo de hongos levaduras. (7)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es continuo
- Instrumento se usó contador de colonias

Expresión final de la variable: Unidades Formadoras de Colonias por volumen de aire (UFC/vol. aire)

Grado A: $< 1 \text{ UFC/m}^3$

Grado B: $\text{Max } 10 \text{ UFC /m}^3$ (38)

e) Control microbiológico ambiental de superficies de equipos e instalaciones por hisopado.

Definición: “*Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado*”. (39) Por Impresión por 5 segundos con la parte del agar expuesto mediante placa RODAC con agar TSA (Agar de Tripticasa de soya) en el punto elegido. Incubar por 48 h de 30 - 35°C, y se

realiza el conteo de bacterias luego incubar de 20 a 25 ° C de 3 días a más y realizara el conteo de hongos y levaduras. (38)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es continuo
- Instrumento: Contador de colonias
- Expresión final es: Unidades Formadoras de Colonias por mL (UFC/mL)

Grado A < 1 UFC/25 cm² placa

Grado B < 5 UFC/25 cm² placa (38)

f) Control microbiológico de personal

Definición: “*Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado*”. (39) Por Impresión por 5 segundos con la parte del agar expuesto mediante placa RODAC con agar TSA (Agar Tripticasa de soya) en el punto del uniforme a monitorear como son: Cierre del pecho, Guante derecho e izquierdo, antebrazo derecho e izquierdo, pierna derecho e izquierdo. Incubar por 48 h de 30 - 35°C, y se realiza el conteo de bacterias luego incubar de 20 a 25 ° C de 3 días a más y se realizó el conteo de hongos y levaduras. (38)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es continua
- Instrumento se usó contador de colonias
- Expresión final de la variable: Unidades Formadoras de Colonias por mL (UFC/mL)

Grado A <1 UFC/placa

Grado B máximo 5 UFC/placa (38)

Indicadores:

3.3.1.1.4 Peor caso - Proceso de envasado

Se determinó siguiendo los pasos indicados en el ítem 4.1.4 Etapa de envasado, literal C: "Condiciones de elección del peor caso"

Subindicadores:

a) Tamaño de lote en la validación

Definición: El tamaño máximo para procesar es de aproximadamente 82 000 ampollas, lo cual se consideran lotes de mediana escala. para establecer el tamaño de lote (peor caso) se toma en cuenta según el reporte 45 de OMS, la cantidad a procesar debe ser mayor a 10000 unidades, por ello se decidió establecer una cifra de 11000 ampollas como la cantidad a procesar. (2)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es razón
- Instrumento es sensor contador
- Expresión final de la variable son unidades de ampollas

b) Velocidad de la máquina envasadora

Definición: la velocidad se determina considerando el tamaño de lote y la velocidad a emplear para el producto se decide lo siguiente: se conoce que la velocidad teórica de envase a emplear es aproximadamente 9600 ampollas/hora, teniendo un lote de 82 000 ampollas entonces el envase se desarrollaría en 8.5 horas. Por ello en el estudio se utilizará la misma velocidad para procesar las 11000 ampollas con paradas a intervalos de tiempos para un tiempo total de 8.5 horas (Fuente de laboratorio)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directa
- Escala es razón

- Instrumento es el contador/cronometro
- Expresión final de la variable: unidades de ampollas/hora

c) Tiempo total de operación

Definición. - De acuerdo con la capacidad de la máquina y a la cantidad de ampollas a llenar establecido en los puntos anteriores se estiman los siguientes tiempos: (Fuente de laboratorio)

Montaje: 0.5 horas.

Envase y sellado: 8.5 horas.

Tiempo total de operación: 9 horas.

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativo
- Forma de medición es directa
- Escala es razón
- Instrumento es cronómetro
- Expresión final variable es 9 horas

d) Volumen de medio de cultivo a envasar

El volumen a envasar no es constante será diferente para cada ampolla por ello se realiza control de volumen durante el envase, se envasa a un volumen mínimo, promedio y máximo. El volumen de envase va a determinar que hay un contacto del medio con la superficie interna de la ampolla y puede afectar el resultado, por eso en la inspección se retira las de bajo volumen y se procede a incubar. Se considera 2 ml a envasar debido a su pequeño tamaño y tiene mayor complejidad en el proceso de envasado. (Fuente de laboratorio)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directo
- Escala es intervalo
- Instrumento usado es la bomba dosificadora
- Expresión final de la variable: 1.90 mL- 2.10 mL

e) Número de personas participantes en la operación

Dos personas dentro de la sala de envase, una encargada del manejo de la envasadora, la segunda encargada de apoyar en las actividades de descarga de ampollas. El tercer operador estará principalmente en la sala de recepción de ampollas y adicionalmente se considera dentro del proceso el ingreso de personal de encargado de mantenimiento ingresará a la sala limpia de envase simulando de intervención de ajuste de pistones de la maquina envasadora. (Fuente de laboratorio)

- Tipo de variable es independiente
- Naturaleza es cuantitativa
- Forma de medición es directo
- Escala es razón
- Instrumento es observacional
- Expresión final de la variable: 4 operarios

3.3.2 VARIABLES DEPENDIENTES:

3.3.2.1 Productos estériles

El personal calificado realizó la inspección visual de las ampollas envasadas por llenado aséptico para identificar la presencia o ausencia de partículas visibles y turbidez, y también se realizó una inspección automática a través del equipo inspector de ampollas que identifica la presencia de partículas y turbidez. Se revisa al 100% todas las unidades (2) (7)

- Tipo de variable es dependiente
- Naturaleza es cuantitativa continua
- Forma de medición es directa
- Escala es nominal
- Instrumento es observacional
- Expresión final de la variable: Estéril / No estéril

**TABLA N° 4
OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES**

VARIABLES	INDICADORES	SUB-INDICADORES	TIPO DE VARIABLE	NATURALEZA	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL DE LA VARIABLE	CRITERIO DE ACEPTACION / CONFORMIDAD
LLENADO ASÉPTICO	FABRICACIÓN	Bioburden del medio de cultivo	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continua	Contador de colonias	Máximo 50 UFC/40mL	Máximo 50 UFC/40mL
		Integridad de los filtros de esterilización	Independiente	Cuantitativa	Directa	Intervalo	Sartocheck	3450 mbar- 4500 mbar	3450 mbar- 4500 mbar
		Esterilidad del medio de cultivo	Independiente	Cualitativa	Directa	Nominal	Observacional	Estéril /No estéril	Estéril
		Promoción de crecimiento del medio de cultivo.	Independiente	Cuantitativa	Directa	Ordinal	Observacional	Buen crecimiento (+) Pobre crecimiento (+/-) Negativo crecimiento (-)	Buen crecimiento (+)
	SISTEMA ENVASE-CIERRE	Esterilidad de las ampollas	Independiente	Cualitativa	Directa	Nominal	Observacional	Estéril / No estéril	Estéril
		Despirogenización de las ampollas	Independiente	Cuantitativa	Directa	Intervalo	Indicadores	> 0.5 λ y < 2 λ (+) gel al invertir 180° (-) gel al invertir 180°	No más de: 0.25 UE USP/mL (+) gel al invertir 180°
		Control ambiental por muestreo sala de fabricación por método placas de	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continuo	Contador de colonias	Grado C: Max.50 UFC/placa Grado D: Max.100 UFC/placa	Grado C: Max.50 UFC/placa Grado D: Max.100 UFC/placa

CONDICIONES AMBIENTALES PARA EL LLENADO ASÉPTICO	Control ambiental por muestreo sala de lavado de ampollas por método placas	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continuo	Contador de colonias	Grado C: Max.50 UFC/placa Grado D: Max.100 UFC/placa	Grado C: Max.50 UFC/placa Grado D: Max.100 UFC/placa	
	Control ambiental por método muestreo placas de sedimentación	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continuo	Contador de colonias	Grado A: < 1 UFC/placa Grado B: Max. 5 UFC/placa Grado C: Max.50 UFC/placa	Grado A: < 1 UFC/placa Grado B: Max. 5 UFC/placa Grado C: Max.50 UFC/placa	
	Control ambiental por método muestreo volumétrico de aire sala de	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continuo	Equipo 100 mas	Grado A: < 1 UFC/m3 Grado B: Max 10 UFC /m3	Grado A: < 1 UFC/cm3 Grado B: Max 10 UFC /cm3	
	Control microbiológico ambiental de superficies de equipos y de instalaciones por hisopado	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continuo	Contador de colonia	Grado A: < UFC/25cm2 placa Grado B: < 5 UFC/25cm2 placa	Grado A: < UFC/25cm2 placa Grado B: < 5 UFC/25cm2 placa	
	Control microbiológico de personal RODAC	Independiente	Cuantitativa	Directa	Continuo	Contador de colonias	Grado A: <1 UFC/placa Grado B: máximo 5 UFC/placa	Grado A <1 UFC/placa Grado B máximo 5 UFC/placa	
	PEOR CASO - PROCESO DE ENVASADO	Tamaño de lote en la validación	Independiente	Cuantitativa	Directa	Razón	Sensor contador	Unidades de ampollas/	11000 ampollas
		Velocidad de la máquina envasadora	Independiente	Cuantitativa	Directa	Intervalo	Contador/ cronometro	Unidades de ampolla /hora	9550 ampollas /hora
		Tiempo total de operación	Independiente	Cuantitativa	Directa	Razón	Cronómetro	9 horas	9 horas
		Volumen de medio de cultivo a envasar	Independiente	Cuantitativa	Directa	Intervalo	Bomba dosificadora	1.90 mL - 2.10 mL	1.90 mL - 2.10 mL

		Número de personas que participa en el proceso	Independiente	Cuantitativa	Directa	Razón	Observacional	4 operarios	4 operarios
VARIABLES DEPENDIENTES	INDICADORES	SUBINDICADORES	TIPO DE VARIABLE	NATURALEZA	FORMA DE MEDICIÓN	ESCALA	INSTRUMENTO	EXPRESIÓN FINAL DE LA VARIABLE	CRITERIO DE ACEPTACIÓN / CONFORMIDAD
PRODUCTOS ESTERILES	INSPECCIÓN DE UNIDADES ENVASADAS DE LLENADO ASÉPTICO	Unidades envasadas	Dependiente	Cuantitativa	Directa	Nominal	Inspección visual	Estéril/ No estéril	0 unidades contaminadas es Conforme

3.4 PROCEDIMIENTO

El procedimiento se realizó cumpliendo con el protocolo de validación PT 001 (ver Anexo N° 34) el proceso de llenado aséptico simula fielmente todas las operaciones reales de producción, usando medios de cultivo (caldo digerido de caseína y soja), en lugar de la solución de un producto farmacéutico, donde se incorporó intervenciones y actividades que suceden más frecuente el proceso de envase real y considerando las condiciones del peor caso.

La simulación de llenado aséptico presenta diferentes procesos y etapas como se puede verificar en el Flujograma N°4, estos procesos se realizaron en salas limpias, para evitar la contaminación microbiológica de los productos, se debe tener en cuenta que todos los materiales que intervienen en el proceso deben ser estériles.

Antes de ejecutar la validación de llenado aséptico se verificó el estado de calificación y/o vigencia del sistema de apoyo crítico (Ver Anexos N° 22,23, 24 y 25).

3.4.1 LLENADO ASÉPTICO

3.4.1.1 ETAPA DE FABRICACIÓN

El personal calificado de fabricación realiza la preparación del medio de cultivo cumpliendo las Buenas Prácticas de Manufactura, realizando los siguientes pasos a y b, pasos que se muestran de manera detallada en el Flujograma N°1.

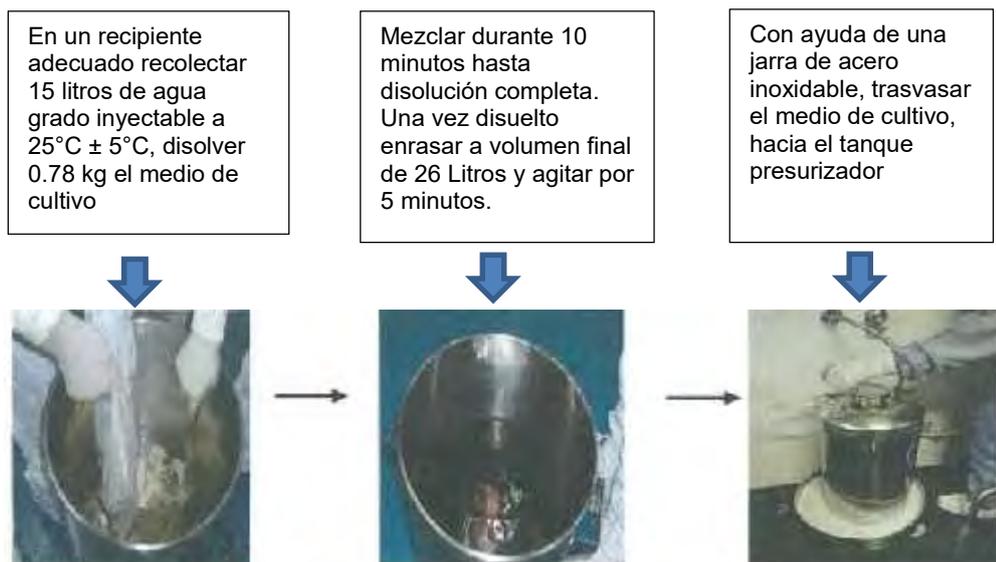
3.4.1.1.1 Proceso de fabricación del medio de cultivo

- ✓ En la sala limpia de fabricación se realizó la preparación del medio de cultivo.
- ✓ Los materiales que se utilizaron son: Medio de cultivo (caldo digerido de caseína y soja).
- ✓ Previamente se fraccionó el medio de cultivo, bajo flujo laminar en el área de control microbiológico y se entrega a la sección de producción solicitante. Se verificó el peso de la cantidad necesaria de medio de cultivo

(0.78 kg) para preparar el volumen requerido, de acuerdo con la concentración establecida de 30 g/L.

- ✓ Posteriormente en un recipiente adecuado disolver completamente la cantidad pesada de 0.78 kg en 15 L de agua para inyección y verificar que se disuelva completamente hasta una solución homogénea transparente, luego añadir agua para inyección hasta completar 26 L y agitar para homogenizar, como se muestra en el Esquema N°1 “Proceso de preparación”.
- ✓ **Control de Bioburden:** Seguidamente tomar una muestra para el control de Bioburden del medio de cultivo, el muestreo y ensayo de Bioburden se realiza conforme el POE-004-00 Muestreo y ensayo de Bioburden. (Ver Anexo N° 26). Se realiza esta prueba para determinar la carga número total de microorganismos viables que están presentes en el medio de cultivo antes de la filtración esterilizante según lo establecido en la PDA asociación de medicamentos parenterales, de acuerdo con el tratamiento de reducción de carga microbiana que se realice al medio de cultivo en este caso por ser llenado aséptico el método de esterilización que se aplica es filtración estéril la especificación es máximo 50 UFC/ 40 mL como carga microbiológica de partida.

ESQUEMA N° 1 PROCESO DE PREPARACIÓN

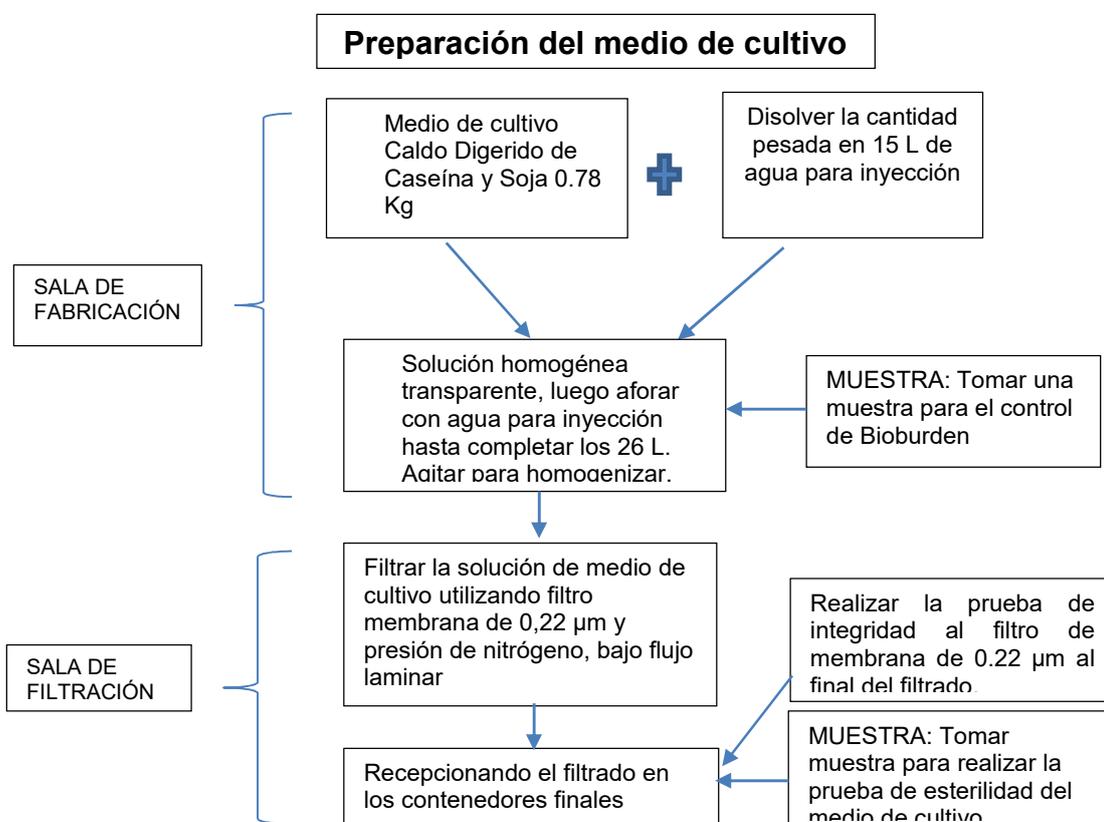


Fuente: Elaboración propia

3.4.1.1.2 Filtración estéril del medio de cultivo

- ✓ En seguida se filtró el medio de cultivo utilizando filtro membrana de 0,22 μm (Durapore® membrane). Se recepcionó el filtrado en los balones de vidrio estéril, como se muestra en el Esquema N°2 “Sala de filtración”, este proceso se realiza bajo flujo laminar.
- ✓ **Prueba de integridad de filtro:** Se realizó la prueba de integridad de filtro (Durapore® membrane) de esterilización, siguiendo el Instructivo - 001-00 Prueba de integridad de filtro (Ver Anexo N° 27)
- ✓ **Prueba de esterilidad:** Se realizó la prueba de esterilidad del medio de cultivo, siguiendo el instructivo - P008-03 Ensayo de Esterilidad (Ver Anexo N° 28)
- ✓ **Prueba de promoción de crecimiento del medio de cultivo:** La prueba de promoción del medio de cultivo se realizó, siguiendo el Instructivo P002-02 Promoción de medios de cultivo (Ver Anexo N° 29).

FLUJOGRAMA N° 1 PROCESO DE FABRICACIÓN Y FILTRACIÓN ESTERIL



Fuente: Elaboración propia

ESQUEMA N° 2 SALA DE FILTRACION



Fuente: Elaboración propia

3.4.1.2 SISTEMA DE ENVASE - CIERRE

Los componentes del sistema envase cierre son las ampollas vacías, las ampollas se lavaron en la lavadora ultrasónica vertical, luego se ingresó por medio de una faja deslizadora al túnel de despirogenado para ser esterilizado por calor seco. Terminado el proceso las ampollas son conducidas por medio de una faja deslizadora al area de envase. Continuamente se va abasteciendo de ampollas durante el llenado aséptico.

- Para realizar la prueba de endotoxinas se realiza conforme el Instructivo-A003-02 “Determinación de endotoxinas” (Ver Anexo N° 30), las muestras son ampollas despirogenadas.
- Se tomó una muestra de ampollas despirogenadas para realizar la prueba de esterilidad de las ampollas, siguiendo el instructivo P008-03 Ensayo de Esterilidad (Ver Anexo N° 28)

3.4.1.3 CONDICIONES AMBIENTALES PARA EL LLENADO ASÉPTICO.

Se realizó los siguientes controles ambientales:

- a) Control ambiental por exposición de placas en la sala de fabricación.
 - b) Control ambiental por exposición de placas en la sala de lavado de ampollas.
 - c) Control ambiental por exposición de placas en la sala de envasado, los puntos de muestreo se pueden observar en la Tabla N°5.
 - d) Control ambiental por método muestreo volumétrico de aire en sala de envasado.
 - e) Control microbiológico ambiental de superficies de equipos y de instalaciones por hisopado, los puntos de muestreo se observan en la Tabla N° 6.
 - f) Control microbiológico de personal.
-
- Los puntos A, B y C se realizó mediante el método de exposición de placas según el instructivo-P021-05 Monitoreo de partículas viables en las áreas de producción estéril. (Ver Anexo N° 31)
 - El punto D se realizó por el método de muestreo volumétrico de aire siguiendo el instructivo-P021-05 Monitoreo de partículas viables en las áreas de producción estéril. (Ver Anexo N° 31)
 - El punto E se realizó por el método de hisopado siguiendo el instructivo-P021-05 Monitoreo de partículas viables en las áreas de producción estéril. (Ver Anexo N° 31)
 - El punto F se realizó por el método placas de contacto siguiendo el instructivo-P021-05 Monitoreo de partículas viables en las áreas de producción estéril. (Ver Anexo N° 31)

**TABLA N° 5
PUNTOS DE MUESTREO EN SALA DE ENVASE**

SALA	PUNTOS DE MUESTREO
Sala de Envase	Dentro del flujo laminar de envase
	Cerca de la zona de llenado
	Ingreso de ampollas vacías
	Dentro del flujo laminar de recepción de ampollas
	Dentro del flujo laminar en el área de filtración
	Fuera del flujo laminar del área de envase
	Fuera del flujo laminar en el área de filtración
	Cerca de la puerta de descarga de la autoclave
	Pasadizo N° 1
	Pasadizo pre-área N° 3
	Pasadizo pre-área N°2
	Pasadizo pre-área N° 1

Fuente: Elaboración propia.

**TABLA N° 6
PUNTOS DE MUESTREO MICROBIOLÓGICO DE AMBIENTES Y SUPERFICIES.**

SALAS	PUNTOS DE MUESTREO
Sala de Filtración	Cortina flujo laminar Filtración
	Mesa bajo flujo laminar Filtración
Sala de Envase	Pared interna mampara de equipo de envase
	Cortina de flujo laminar de envase (Zona de producto)
	Mesa de equipo bajo flujo laminar de envase
	Marco de la ventana
	Pared
	Piso
Pasadizo	Pared pasadizo

Fuente: Elaboración propia.

3.4.1.4 PEOR CASO - PROCESO DE ENVASADO

En el proceso de envasado de llenado aséptico, se simuló el proceso fielmente las operaciones de fabricación y envasado reales e incorporando intervenciones y actividades que suceden en la producción real, así como la situación del peor caso (ver Flujograma N° 2), teniendo en cuenta factores tales como:

3.4.1.4.1 Complejidad de las operaciones

La línea de envase de la planta del laboratorio está destinada fundamentalmente al envase de productos tipo solución en ampollas, el llenado aséptico simula las etapas de mayor complejidad en cuanto a operaciones de envase de ampollas (llenado y sellado).

3.4.1.4.2 Tamaño del lote

La cifra de unidades de ampollas a llenar con medio de cultivo para la validación tiene que ser suficientes para que la valoración de las 3 pruebas sea válida, considerando el tamaño máximo de lote.

El tamaño de lote industrial máximo en la empresa es de aproximadamente 82 000 ampollas, el cual está en lotes de escala mediana. De acuerdo con el reporte 45 anexo 6 de la OMS se considerará la cantidad de lote a procesar en cual corresponde a la escala de ser mayor a 10000 unidades a procesar, considerando lo anterior se define establecer una cantidad de 11000.

3.4.1.4.3 Velocidad que corresponde a la máquina envasadora

La velocidad se determina considerando el tamaño de unidades a envasar y la velocidad a emplear para el producto se decidió lo siguiente: se conoce que la velocidad teórica de envase a emplear es aproximadamente 9600 ampollas/hora, teniendo un lote de 82 000 ampollas, por tanto, el envasado se desarrollaría en 8.5 horas. En el estudio se utilizó la misma velocidad para procesar las 11000 ampollas con paradas a intervalos de tiempos para un tiempo total de 8.5 horas. La intervención simulada se realiza como sigue:

Se realizó la intervención del proceso de envasado, considerando el ingreso a sala limpia de envasado del personal a cargo de mantenimiento del equipo, como se muestra en la Tabla N° 7, el personal de mantenimiento simula dificultades durante el ajuste de las posiciones de las agujas de dosificadoras, como a continuación detalla:

- i. Detenga el abastecimiento de ampollas vacías.
- ii. Retire por completo las ampollas vacías existentes en la guía de abastecimiento hacia el dosificador.
- iii. Simule ajustar la zona de dosificación.

Si ocurren intervenciones reales en el proceso que están contempladas dentro de las planificadas no será necesario repetir las mismas, se realizó paradas, actividades e intervenciones proyectadas de acuerdo a la siguiente secuencia descrita en la Tabla N°7.

**TABLA N° 7
SECUENCIA DE LLENADO**

Etapa	Mo	P	I	P	I	P	M	P	M	P	F	P	F	Total
Tiempo (minutos)	30	60	15	60	20	115	15	60	15	60	15	60	15	540
Intervención programada	---	---	---	---	1°	---	---	---	---	---	---	---	---	1

Donde: Mo=Montaje / I = Inicio / M = Medio / F = Final / P = Parada programada

Fuente: Elaboración propia

3.4.1.4.4 Tiempo de duración de la operación

De acuerdo con la capacidad del equipo en cuanto a la velocidad de la envasadora y a la cantidad de ampollas a procesar se estableció los tiempos en la Tabla N°7 los tiempos de:

- Montaje de equipo: 0.5 horas.
- Envase y sellado: 8.5 horas.
- Tiempo total de operación: 9 horas.

3.4.1.4.5 Volumen de medio de cultivo a envasar

En el laboratorio, para el área de inyectables se utilizan varios volúmenes de presentación de ampollas (2 mL y 5 mL). Para establecer el peor caso en cuanto al volumen de solución a envasar, se tuvo en cuenta lo siguiente:

La presentación de ampollas de 2 mL, debido a su pequeño tamaño, son los que provocan mayor problema la alimentación de ampollas a la envasadora. Adicionalmente la presentación de 2 mL representa la mayoría de las presentaciones que se utilizan en la línea de envasado para los productos, por ello se determinó que en este estudio de validación se utilizará la presentación de 2 mL como peor caso. Además, a esto, cuando se utilicen las presentaciones de mayor volumen los tamaños de lotes suelen durar menos tiempo.

En el llenado aséptico la cantidad de volumen a dosificar de medio de cultivo no establece en las normas oficiales como parámetro crítico, desde la perspectiva aséptica; sin embargo, es significativo considerar la cantidad de volumen mínimo que facilite la inspección de ampollas contaminadas. En el llenado aséptico se utilizó ampollas de capacidad de 3 mL, se definió dispensar 2 mL de volumen de solución de medio de cultivo (agar digerido de caseína y soja). Por lo cual se fabricó un volumen de solución de medio de cultivo que alcance para envasar la cantidad total de unidades de lote programadas.

3.4.1.4.6 Número de personas que participa en el proceso

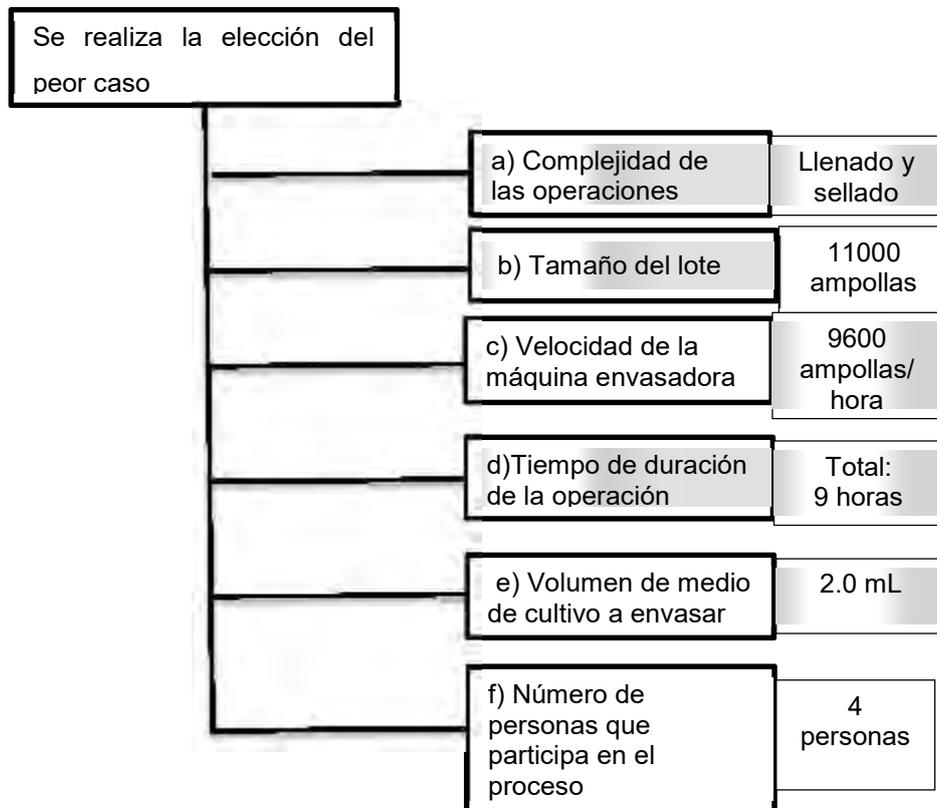
Según las BPM, debe estar presente un número mínimo del personal para realizar las actividades operacionales asépticas, asimismo el movimiento del personal de ser realizado de manera sistemática y controlada, con el fin de, mantener el flujo de aire unidireccional, evitar la turbulencia del aire y liberación de partículas viables y no viable.

El número de personal que participa en el proceso de llenado aséptico se determinó 3 personas de acuerdo con la complejidad de la operación y fatiga del personal. Asimismo, el personal debe estar debidamente

capacitado y calificado en las operaciones del área estéril y designados su posición como se detalla a continuación:

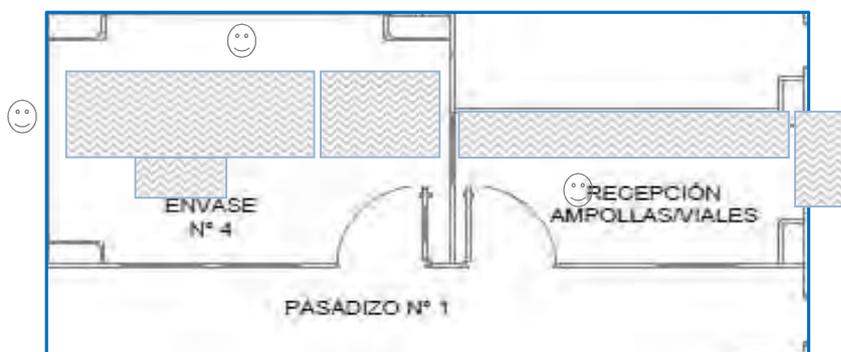
- ✓ En la sala limpia de envase están ubicadas 2 personales, un personal cumple la función del manejo de la envasadora TruKing y un segundo personal cumple la función de apoyo en cuanto a las operaciones de descarga de unidades (ver Figura N° 2).
- ✓ La tercera persona estará principalmente en la sala de recepción de ampollas y puede ingresar a la sala de envase cubriendo cualquier necesidad que se pueda presentar en el proceso general (ver Figura N°2).
- ✓ Adicionalmente se considera dentro del proceso el ingreso de personal encargado de mantenimiento que realizará simulacro de intervención que cubra operaciones de falla del equipo.

FLUJOGRAMA N°2 ELECCIÓN DEL PEOR CASO



Fuente: Elaboración propia

FIGURA N° 2
DISTRIBUCIÓN DE LA UBICACIÓN LOS OPERARIOS EN
LLENADO ASÉPTICO



Fuente: Elaboración propia

3.4.2 INSPECCIÓN, INCUBACIÓN Y LECTURA DE LAS AMPOLLAS ENVASADAS.

La inspección visual de ampollas se realiza para verificar la presencia de turbidez de la solución del medio de cultivo, se realiza de forma automática con el equipo inspector de ampollas y de forma manual con un personal calificado en inspección visual, se realizó de acuerdo al Flujograma N°3.

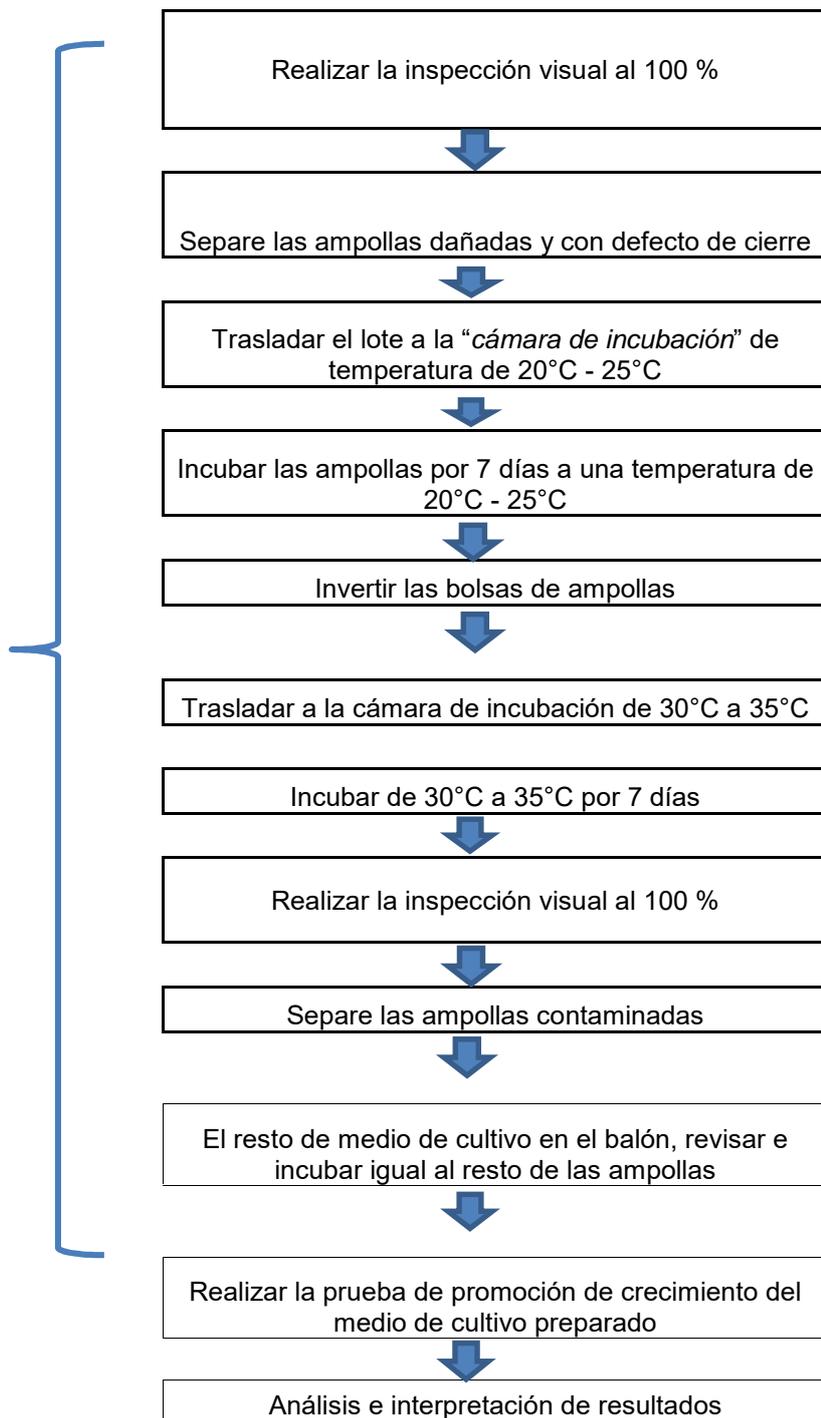
- ✓ Las ampollas envasadas se recibieron en bandejas y se cubrió con una bolsa y se identificó de forma correlativa las bandejas.
- ✓ Invertir las ampollas para que el medio de cultivo (agar digerido de caseína de soja) este en contacto con más áreas de las paredes internas del envase primario y se trasladó las ampollas hacia el área donde se ubica la "cámara de incubación" de temperatura de 20°C a 25°C.
- ✓ Incubar las unidades envasadas durante 7 días a temperatura de 20 °C a 25 °C.
- ✓ Al término ítem anterior realizar lo siguiente: Trasladar las ampollas a la "cámara de incubación" de temperatura de 30 °C a 35 °C e incubar las unidades envasadas por 7 días a temperatura de 30 °C a 35 °C, registrar en el Anexo N° 32.
- ✓ Al finalizar los 14 días de incubación se realizó lo siguiente:
- ✓ El personal calificado realizó la inspección visual al 100 % de las ampollas envasadas, luego las ampollas son revisadas en el equipo inspector de

ampollas y realizar la lectura del 100% de las ampollas, invertir la bandeja de las ampollas antes de comenzar la operación.

- ✓ Las unidades contaminadas retirar y verificar su situación con el personal de microbiología del área de control de calidad.

FLUJOGRAMA N° 3 INSPECCIÓN, INCUBACIÓN Y LECTURA DE LAS AMPOLLAS

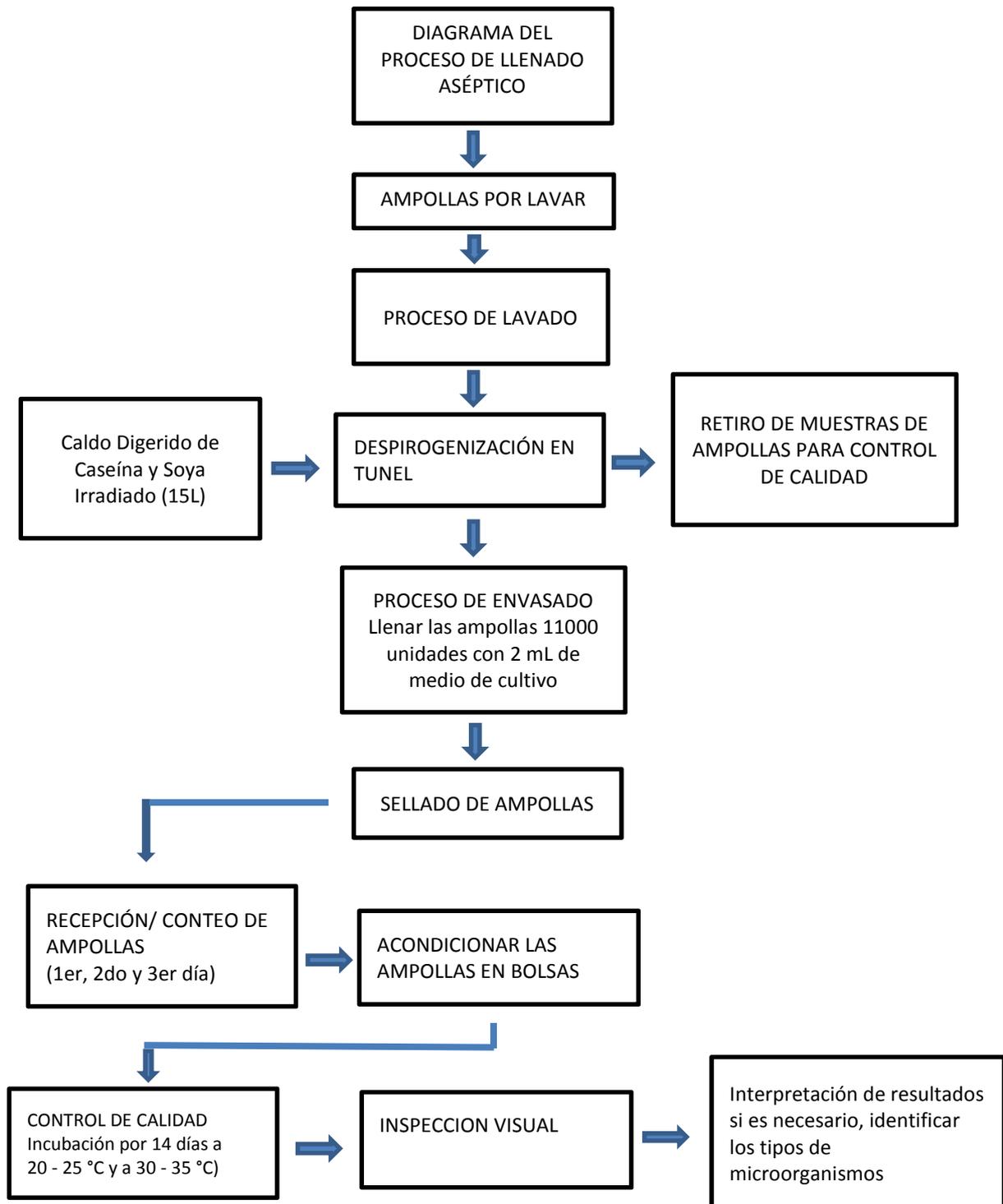
INSPECCIÓN, INCUBACIÓN Y LECTURA
DE LAS AMPOLLAS



Fuente: Elaboración propia

FLUJOGRAMA N° 4

DIAGRAMA GENERAL DEL PROCESO LLENADO ASÉPTICO



Fuente: Elaboración propia

3.4.3 ANÁLISIS DE RESULTADOS

Se analizó los resultados obtenidos verificando que se cumplan con los criterios de aceptación, durante el proceso de llenado aséptico y se verificó lo siguiente:

- ✓ Cumplimiento de los criterios de aceptación establecidos por las BPM, OMS y PAD, de cada uno de los indicadores de la etapa de Fabricación.
- ✓ Cumplimiento de las especificaciones de referencias de la USP versión actual, con cada indicador Sistema Envase- cierre.
- ✓ Cumplimiento de los criterios de aceptación, según referencias de la BPM, OMS, PAD y USP de cada uno de los indicadores de las condiciones ambientales para el llenado aséptico.
- ✓ Cumplimiento de los criterios de aceptación, según referencias de la BPM, OMS, PAD y USP de cada uno de los indicadores del PEOR CASO del proceso de envasado.
- ✓ Cumplimiento de los criterios de aceptación en cuanto a la cantidad de unidades contaminadas según los criterios OMS y BPM en la Tabla N° 1 de “Criterios de aceptación de acuerdo con cada rango de tamaño de lote”. Y realizar la investigación de los fallos en caso de aparecer incumplimientos de los criterios de aceptación.

3.4.3.1 Interpretación de resultados

En cuanto a la interpretación de interpretación de resultados de 3 corridas del proceso de llenado aséptico, se tuvo en cuenta los siguientes criterios:

- ✓ La validación del llenado aséptico se consideró aprobado “*si en tres pruebas consecutivas no se detecta ninguna unidad contaminada*”. (2) (7)
- ✓ En caso de detectar que “*una unidad contaminada debe dar lugar a una investigación y dos unidades contaminadas se consideran motivos de revalidación tras la investigación*”. (2) (7)

- ✓ Estos resultados se consideran válidos si se comprueba la esterilidad y las propiedades de promoción de crecimiento del medio de cultivo empleado. (2) (7)
- ✓ Por otra parte, los resultados correspondientes al monitoreo ambiental deben cumplir con los criterios de aceptación establecidos. (2)(7)

3.4.3.2 Condiciones para invalidar la prueba

Las condiciones para la invalidar la prueba se darán siempre en cuando que los resultados de la prueba de validación del llenado aséptico estén fuera de los criterios de aceptación y se presente los siguientes casos que se debe verificar:

- ✓ Se verificó si existe fallos en las condiciones físicas del envase, esto representan un alto riesgo para el aseguramiento de la esterilidad del producto.
- ✓ Se verificó si existe incumplimiento por parte de los operadores de seguir conforme a los procedimientos de operaciones de preparación de materiales y envase.
- ✓ Se verifico si existe incumplimiento de los parámetros planificados para el peor caso que afecten la calidad de los resultados del estudio realizado. (3)

3.4.4 TECNICAS E INSTRUMENTOS PARA LA RECOLECCIÓN DE INFORMACIÓN

3.4.4.1 Técnica de recolección de información

Se utilizó la técnica de observación directa, porque se observa las variables directamente en su contexto habitual y se cuantifica los datos obtenidos de todas las variables del del proceso de llenado aséptico.

3.4.4.2 Instrumentos

- Durante el llenado aséptico se utilizó formatos para la recolección de datos y registrar los resultados que se encuentran en la parte de anexos.
- Formato para verificar el estado de validación y calificación (Anexo N°3).
- Formato de reporte de Bioburden del medio de cultivo (Anexo N°4).
- Hoja de reporte del test de punto de burbuja (Anexo N°5).
- Formato de reporte de prueba de esterilidad (Anexo N°6).
- Formato de reporte de la prueba de promoción de crecimiento (Anexo N°7).
- Formato de reporte de la prueba de endotoxinas bacterianas (Anexo N°8).
- Formato de control ambiental por exposición de placas – Sala de fabricación y lavado. (Anexo N°9).
- Formato de control ambiental por exposición de placas - Sala de envase (Anexo N°10).
- Formato de control ambiental por método volumétrico (Anexo N°11).
- Formato de control microbiológico de superficie, equipos e instalaciones corresponde a Anexo N°12.
- Formato “Control de uniforme microbiológico del personal” corresponde al Anexo N°13.
- Formato de control de volumen durante el envasado (Anexo N°14).
- Formato de registro de temperatura y humedad relativa corresponde al Anexo N°15.
- Formato “Inspección visual de ampollas” (Anexo N°16).
- Cuadro “Consolidado de ampollas envasadas” corresponde al Anexo N°17.
- Formato “Análisis fisicoquímico de agua para inyección” (Anexo N° 18).
-
- Formato de control de endotoxinas bacterianas en agua para inyección (Anexo N° 19).

- Registro de temperatura, humedad relativa y presión diferencial (Anexo N° 20).
- Determinación de biocontaminación de gases (Anexo N° 21).
- Condiciones previas (Anexo N° 22).
- Estado de la validación y calificación (Anexo N° 23).
- Resumen del estado de calificación equipos /instrumentos (Anexo N° 24).
- Consolidado de unidades envasadas (tiempo y temperatura de incubación) (Anexo N° 33).

3.4.4.3 Técnicas de análisis de datos

Los datos obtenidos serán procesados mediante normas nacionales internacionales, estadísticas descriptivas nos permite medir los parámetros para poder analizar y si cumplen con las especificaciones dadas, estadísticas inferencias por el análisis de regresión en el que permite predecir un resultado a partir de otro y la herramienta estadística Minitab, según corresponda.

CAPÍTULO IV

ANÁLISIS E INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El reporte de validación RV001 muestra el resumen de los resultados obtenidos ver Anexo N° 35.

4.1 RESULTADOS LLENADO ASÉPTICO

4.1.1 FABRICACIÓN

**TABLA N° 8
CONTROL DE BIOBURDEN DEL MEDIO DE CULTIVO**

Producto: Caldo digerido de caseína y soja irradiado			
Medios de cultivo y soluciones:		lote	
<i>Agar digerido de caseína y soja (TSB):</i>		C31605	
<i>Agar Sabouraud Dextrosa (DSA):</i>		C41805	
<i>Líquido D (Agua peptonada /tween:</i>		C11805	
Especificaciones:			
Filtración Estéril: Max .50 UFC /40ml (Aerobios + hongos y filamentos levaduras)			
RESULTADOS			
Pruebas	Recuento Total		Resultado
	<i>Recuento total de Microorganismos Aerobios</i>	<i>Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras</i>	
1° Prueba	2 UFC /40ml	< 1 UFC /40ml	Conforme
2° Prueba	4 UFC /40ml	< 1 UFC /40ml	Conforme
3° Prueba	2 UFC /40ml	< 1 UFC /40ml	Conforme

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 4 se elaboró la Tabla.

FIGURA N°3
CONTROL DE BIOBURDEN



Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En concordancia con los resultados de la Tabla N° 8 y Figura N° 3 se observa los resultados de Bioburden antes de la filtración esterilizante del medio de cultivo: Recuento total de microorganismos aerobios, en la primera prueba 2 UFC /40mL, segunda prueba 4 UFC /40mL y tercera prueba 2 UFC /40mL de y <1 UFC /40mL el recuento total combinado de levaduras y hongos filamentosos durante la primera prueba <1 UFC /40mL, segunda prueba <1 UFC /40mL y tercera prueba <1 UFC /40mL, las tres pruebas se encuentran dentro de las especificaciones máx. 50 UFC /40mL del medio de cultivo. En la BPM indica que la carga microbiológica de los materiales de partida debe ser mínima, en este caso el medio de cultivo es monitoreado antes de la esterilización. Medina H. y colaboradores realizaron la Validación de un sistema de tratamiento de agua grado inyectable demuestran que el sistema de tratamiento de agua grado inyectable se encuentra bajo control, es importante porque es agente diluyente del material de partida.

Leví E. y colaboradores obtuvieron resultados en la evaluación de la biocarga microbiana, bacterias mesófilas, hongos y levaduras, cumpliendo con la especificación menor a 10 UFC/mL según certificado del medio de cultivo, parar

descartando una posible contaminación en la línea estéril de producto, es conforme las características microbiológicas.

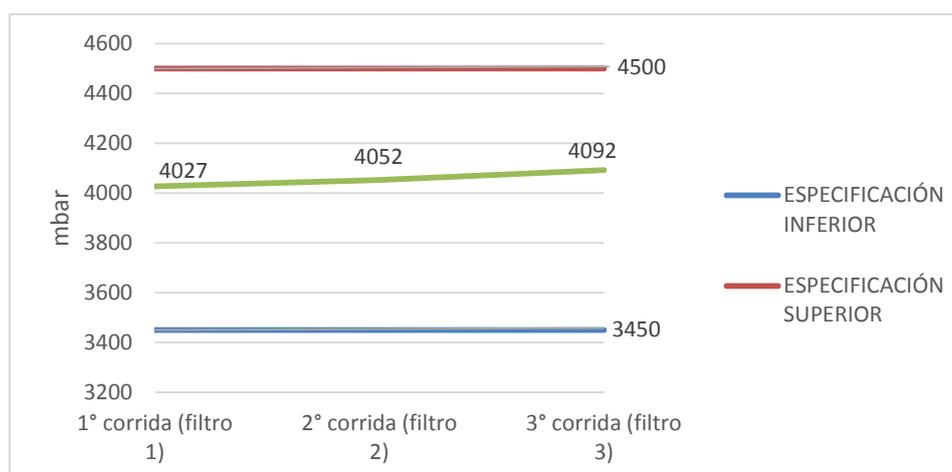
**TABLA N° 9
ENSAYO DE INTEGRIDAD DE FILTRO DE ESTERILIZACIÓN POR EL
MÉTODO DE PUNTO DE BURBUJA**

Producto: Caldo digerido de caseína y soya irradiado			
Parámetros de test:			
Clase de test:		Estándar	
Punto de burbuja min.		3450 mbar	
Punto de burbuja máx.		4500 mbar	
Escala presión del equipo.		50 mbar	
Volumen neto:		Auto	
RESULTADOS			
Prueba	Punto de burbuja (mbar)	Volumen neto: (mL)	Evaluación:
1° (filtro 1)	4027	189	Test Aprobado
2° (filtro 2)	4052	195	Test Aprobado
3° (filtro 3)	4092	192	Test Aprobado

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°5 se elaboró la Tabla.

GRÁFICO N° 2

**ENSAYO DE INTEGRIDAD DE FILTRO DE ESTERILIZACIÓN POR EL
MÉTODO DE PUNTO DE BURBUJA**



Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la Tabla N°9 y Gráfico N°2 las tres pruebas de integridad de filtro (0.22 µm) correspondiente a cada filtración esterilizante está dentro de los parámetros de la prueba de integridad de filtro de 3200 mbar a 4500 mbar por el método de punto de burbuja, según lo definido por el fabricante Sartorius los parámetros, estaba prueba asegura que el filtrado obtenido es estéril, cumpliendo con el requisito de la OMS y BPM. Además, que el filtro está suficientemente humectado, presenta el tamaño de poro adecuado, la temperatura correcta por lo que retienen la carga microbiana del medio de cultivo y este a su vez presenta una tensión superficial correcta, por tanto, asegura que el filtro esta integro. Por tanto, se cumple con los criterios del anexo N°1 de AEMPS “*Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios*”, donde señala que es obligatorio demostrar anteriormente de su manejo, la integridad de los filtros esterilizante también deberá corroborar seguidamente a continuación de su manejo por el método apropiado; en este caso el ensayo de punto de burbuja. Ríos Afanador JP. Señalo que la prueba de integridad de los filtros que utilizaron en el proceso de envase del medio de cultivo es conforme.

**TABLA N° 10
ESTERILIDAD MEDIO DE CULTIVO**

Especificación de esterilidad acuerdo a la USP <71>:		Estéril
RESULTADOS		
Prueba	Lote de medio de cultivo preparado	Resultado
1°	VAL -181105A	Estéril
2°	VAL – 181106B	Estéril
3°	VAL – 181107C	Estéril

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°6 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la Tabla N°10, se aprecia que en las muestras (producto envasado) después de finalizar la fabricación y la filtración no hubo crecimiento y no se detectaron formas viables de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) en el medio de cultivo, por tanto, no se encuentran como contaminantes y el medio de cultivo es estéril, esto demuestra que estas operaciones se realizaron

satisfactoriamente de acuerdo con las Buenas Prácticas de Manufactura para productos estériles. Además, que el ensayo de esterilidad se realizó en ambientes asépticos; como resultado se tiene que el medio de cultivo no se produce crecimiento de ningún organismo y cumpliendo con las especificaciones de aprobación señalados según la “*Farmacopea Americana de los Estados Unidos*” (USP) edición vigente. Esta prueba nos permite confirmar que el proceso esterilizante fue apropiado avalando resultados repetitivos y confiables para a manufactura de un producto estéril. Fernández López M y colaboradores (9), obtuvieron resultados en el ensayo de esterilidad del cado digerido de caseína y soja en la primera prueba obtuvieron resultados conforme, pero al finalizar la simulación las muestras de la primera prueba evidenciaron las ampollas una contaminación con microorganismos bacilos gram positivos, sugiriéndonos como resultado rechazado. Sin embargo, en el 2do y 3era envase las muestras de ampollas tomadas al finalizar la simulación obtuvieron resultados aprobatorios. De Giorgi I y colaboradores, el control de esterilidad del medio de cultivo, después de incubación a 20- 25 °C y 30 – 35 °C, por 14 días no se observó crecimiento en ningún vial. El medio de cultivo se consideró estéril y podría ser utilizado para el estudio

TABLA N° 11
ENSAYO DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO DEL MEDIO DE CULTIVO

PRUEBA	LOTE Medio de cultivo (TSB)	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>C. albicans</i> 10231	<i>A. brasiliensis</i> 16404	<i>P. aeruginosa</i> 9027	<i>S. aureus</i> 6538	<i>C. sporogenes</i> 11437	<i>K. rhizophila</i> 9341	<i>E. coli</i> 8739	<i>S. typhimurium</i> 14028	Resultado
1°	VAL – 181105A	+	+	+	+	+					Conforme
2°	VAL – 181106B	+	+	+	+	+					Conforme
3°	VAL – 181107C	+	+	+	+	+					Conforme

Leyenda: Buen crecimiento (+) Pobre crecimiento (+/-) Crecimiento negativo (-)

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°7 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con la Tabla N° 11, se asegura de que la “solución de medio de cultivo caldo digerido de caseína y soja” irradiado (TSB) de las tres corridas promueve satisfactoriamente el crecimiento de los microorganismos de prueba según lo establecido en la Farmacopea Americana de los estados unidos (USP), edición vigente, capítulo 71. Por tanto, los resultados cumplen con los requisitos de la OMS y la BPM para la promoción de crecimiento del medio de cultivo y tiene una gran relevancia teniendo en cuenta que mediante esta prueba se aseguró la capacidad que presenta el medio cultivo de permitir el crecimiento de los microorganismos. Fernández López C y sus colaboradores (9), obtuvieron resultados positivos en las 3 pruebas de promoción de crecimiento microbiano para el caldo, el cual demuestra que el medio de cultivo elegido y usado tiene los alimentos indispensables que permite el desarrollo de muchos microorganismos, como los bacilos grampositivos, gramnegativos, levaduras, cocos y hongos “*Bacillus Subtilis*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Cándida Albicans*, *A. Brasilensis*, *Staphylococcus Aureus*”.

Por otro lado, Ríos Afanador JP obtuvo resultados en la prueba de promoción de crecimiento que el medio de cultivo muestra permite un crecimiento de *E. Coli*, *S. aureus*, *B. subtilis* y levaduras *Cándida albicans*.

Mientras tanto, De Giorgi I y colaboradores los resultados de la prueba de promoción del medio el medio de cultivo. El microorganismo probado mostró crecimiento después de tres días. Las bacterias aerobias estrictas crecieron en las jeringas a pesar de falta de aire. Sin embargo, observamos que su el crecimiento fue más lento y difícil que en un vial los siguientes microorganismos *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Cándida albicans*.

Por su parte, Levi E y colaboradores obtuvieron un crecimiento rápido entre las 24 y 48 horas, abundante turbidez de cepas *Bacillus subtilis*, *Aspergillus brasiliensis* y *Cándida albicans*, este medio TSB permite la recuperación eficaz de microorganismos gracias a su baja selectividad, porque no posee inhibidores.

4.1.2 SISTEMA ENVASE CIERRE.

**TABLA N° 12
ESTERILIDAD DE AMPOLLAS**

Especificación de esterilidad acuerdo a la USP <71>: Estéril	
Resultados	
Prueba	Control de la esterilidad de ampollas
1°	Estéril
2°	Estéril
3°	Estéril

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°8 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

Como se puede apreciar en la Tabla N°12 se tiene los resultados que corresponde a las tres corridas con respecto a las ampollas vacías esterilizadas por calor seco, siendo las variables principales la temperatura y el tiempo de exposición, el proceso se realizó en el horno despirogenizador previamente calificado. Las ampollas utilizadas en el proceso de llenado aséptico resultaron estériles luego de ser incubadas por 14 días. Los resultados nos sugieren y nos da un alto grado de seguridad que el proceso de lavado y esterilización de unidades de ampollas se encuentran bajo control. La BPM y OMS establece que todos los componentes que intervienen en el proceso de llenado aséptico deben ser estériles. Es importante el ensayo para verificar las situaciones de esterilidad de las unidades vacías.

Fernández López C y colaboradores (9), obtuvieron resultados conformes en la prueba de esterilidad de los viales, en el caso de la muestra de tapones obtuvieron resultados no conforme, la muestra no conforme fue tomada a la mitad del proceso, ya que se evidenció contaminación con bacilos gram positivos. Las muestras retiradas de tapones al inicio y al final en el 1er primer y 3era prueba obtuvieron resultados conformes. Por su parte Villegas campos JJ. y colaboradores Determinar el nivel de aseguramiento de esterilidad del ciclo de esterilización y comprobar el buen funcionamiento de la autoclave, mostraron que los puntos fríos, pero no se vio crecimiento de microorganismos en esos

puntos lo cual hace valida la prueba, por el cual la esterilización cumple con los requerimientos establecidos.

TABLA N° 13
PRUEBA DE CONTROL DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS DE LAS AMPOLLAS

Especificaciones:	USP <85> Prueba de endotoxinas Bacteriana (Método Gel Clot) No más de: 0.25 UE/mL										
	CRITERIOS DE ACEPTACIÓN: Luego de incubar a 37°C ± 1°C durante 60 ± 2 minutos (+) Presenta gel firme al invertir 180° (-) No presenta gel firme al invertir 180										
Lotes de Reactivos: Pyrotell 0.03UE/mL): 5 Control Estándar de endotoxinas (CSE): 143 Agua LAL: AAB199662											
RESULTADOS:											
ITEMS	LOTE	Prueba de sensibilidad del Pyrotell (Sensibilidad medida del lisado: > 0.5 λ y < 2 λ)						Ensayo de la muestra			Resultado
		Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	
1°Prueba	VAL-181105A	Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	Conforme
		1	+	+	-	-	-	1°	-	+	
		2	+	+	-	-	-	2°	-	+	
2°Prueba	VAL-181106B	Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	Conforme
		1	+	+	-	-	-	1°	-	+	
		2	+	+	-	-	-	2°	-	+	
3°Prueba	VAL-181107C	Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	Conforme
		1	+	+	-	-	-	1°	-	+	
		2	+	+	-	-	-	2°	-	+	

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°8 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

Como se puede apreciar en la Tabla N°13, se tiene los resultados de endotoxinas bacterianas en ampollas vacías, esterilizadas por calor seco utilizadas en el proceso de llenado aséptico resultaron las ampollas conformes. Con estos resultados se asegura que las ampollas vacías son apirógenas cumpliendo los criterios de la OMS y la BPM. Las bacterias Gram negativas produce pirógenos y la actividad pirogénica es muy alto en comparación otros componentes, en base a ello las “Endotoxinas” son de gran importancia en la industria farmacéutica, por tanto la no presencia de endotoxinas en productos inyectables, nos sugiere ausencia en general de sustancias pirogénicos. Ríos Afanador JP. en la calificación de horno despirogenador realizando inactivación de la endotoxina E. coli, los resultados son satisfactorios de los viales resultaron negativos de presencia de endotoxinas para LAL. Villegas Campos JJ. validó del proceso de esterilización por calor húmedo de solución isotónica inyectable, se usó cepas de *B. Stearothermophilus*, *C. Sporogenes*, *Bacillus coagulans* y *B. subtilis* en la prueba de desafío microbiológico no hubo crecimiento y letalidad, logro reducir 7, 146 unidades logarítmicas de población microbiana.

4.1.3 CONDICIONES AMBIENTALES PARA EL LLENADO ASÉPTICO

TABLA N° 14
CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL DE SALAS LIMPIAS DE
FABRICACIÓN MÉTODO EXPOSICIÓN DE PLACAS CON AGAR TSA

ESPECIFICACIONES	
Límites de acción	Límites de alerta
Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado C: Máx. 30 UFC/placa
Grado D: Máx. 100 UFC/placa	Grado D: Máx. 50 UFC/placa

RESULTADOS DE CONTROL AMBIENTAL DE SALAS DE FABRICACIÓN
PRUEBA N° 1
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado
Lote: VAL – 181105A
Método: Exposición de placas con agar TSA
Tiempo de exposición: 1 hora
RESULTADOS

GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Sala de fabricación	1	<1
	Sala de fabricación	1	<1
D	Esclusa de personal sala de fabricación	23	<1
	Esclusa de materia prima sala de fabricación	2	<1
	Lavadero sala de fabricación	1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			

PRUEBA N° 2			
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado			
Lote: VAL- 181106B			
Método: Exposición de placas con agar TSA			
Tiempo de exposición: 1 hora			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Sala de fabricación	1	<1
	Sala de fabricación	5	<1
D	Esclusa de personal sala de fabricación	1	<1
	Esclusa de materia prima sala de fabricación	4	<1
	Lavadero sala de fabricación	3	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			

PRUEBA N° 3			
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado			
Lote: VAL- 181107C			
Método: Exposición de placas con agar TSA			
Tiempo de exposición: 1 hora			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Sala de fabricación	1	<1
	Sala de fabricación	8	<1
D	Esclusa de personal sala de fabricación	2	<1
	Esclusa de materia prima sala de fabricación	1	<1
	Lavadero sala de fabricación	4	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°9 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN: En la Tabla N°14, el control microbiológico ambiental por el método de exposición de placas petri los resultados están por debajo las especificaciones de alerta los cuales son especificaciones más estrictas, grado C: máximo 30 UFC/placa, las 2 zonas de muestreo sala de fabricación como resultado obtuvieron conforme en las tres pruebas. Grado D: máximo 50 UFC/placa, zona de muestreo exclusiva de personal para el ingreso a la sala de fabricación como resultado se obtuvo conforme en las tres pruebas, exclusiva de materia prima como resultado se obtuvo son conformes. El proceso de fabricación exige un adecuado nivel de limpieza ambiental, para reducir los riesgos de contaminación del producto por partículas viables y no viables. La fabricación aséptica se utiliza en el caso en que el fármaco es inestable al calor, también donde la esterilización en el sistema de cierre del recipiente final no es posible. Las BPM indican monitorear las salas para evidenciar la contaminación, de esta manera demostrar el control en cuanto a la limpieza de las salas limpias de fabricación. La OMS indica que se realiza el control microbiológico las salas limpias ya que en estas dichas salas se realiza procesos asépticos en la fabricación y poder controlar el procedimiento de limpieza y sanitización microbiológica de salas grado A y D, utilizando el método exposición de placas Petri.

**TABLA N° 15
CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL DE SALAS LIMPIAS DE
LAVADO DE AMPOLLAS MÉTODO EXPOSICIÓN DE PLACAS CON AGAR
TSA**

ESPECIFICACIONES	
Límites de acción	Límites de alerta
Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado C: Máx. 30 UFC/placa
Grado D: Máx. 100 UFC/placa	Grado D: Máx. 50 UFC/placa

RESULTADO DE CONTROL AMBIENTAL DE LA SALA DE LAVADO DE AMPOLLAS
PRUEBA N° 1
Producto trabajado: Lavado de ampollas – 1° PARTE
Lote: VAL- 181105A
Método: Exposición de placas con agar TSA
Tiempo de exposición: 4 horas
RESULTADOS

GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Ingreso de ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas	<1	<1
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales	15	<1
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales	10	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			
Producto trabajado: Lavado de ampollas – 2º PARTE			
Lote: VAL- 181105A			
Método: Exposición de placas con agar TSA			
Tiempo de exposición: 4 horas			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Ingreso de ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas	<1	<1
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales	12	<1
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales	10	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			

PRUEBA N° 2			
Producto trabajado: Lavado de ampollas – 1º PARTE			
Lote: VAL- 181106B			
Método: Exposición de placas con agar TSA			
Tiempo de exposición: 4 horas			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Ingreso de ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales	5	<1
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas	10	<1
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales	10	<1

	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales	7	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			
Producto trabajado: Lavado de ampollas – 2º PARTE			
Lote: VAL- 181106B			
Método: Exposición de placas con agar TSA			
Tiempo de exposición: 4 horas			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Ingreso de ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales	4	<1
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas	9	<1
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales	11	<1
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales	8	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			

PRUEBA N° 3			
Producto trabajado: Lavado de ampollas – 1º PARTE			
Lote: VAL- 181107C			
Método: Exposición de placas con agar TSA			
Tiempo de exposición: 4 horas			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Ingreso de ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales	5	<1
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas	10	<1
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales	10	<1
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales	7	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			
Producto trabajado: Lavado de ampollas – 2º PARTE			
Lote: VAL- 181107C			
Método: Exposición de placas con agar TSA			

Tiempo de exposición: 4 horas			
RESULTADOS			
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
C	Ingreso de ampollas/viales	<1	<1
	Sala de lavado ampollas/viales	3	<1
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas	9	<1
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales	12	<1
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales	6	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>			

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°9 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

Los resultados de la Tabla N° 15 cumple con de acuerdos a los lineamientos de BPM, el control microbiológico ambiental con el método de exposición de placas petri, los resultados están por debajo de las especificaciones de alerta de acuerdo con la “*USP <1116> Control Microbiológico y Monitoreo de Ambientes de Procesamiento Aséptico*”, los cuales son especificaciones más estrictas, grado C: máximo 30 UFC/placa, las obtuvieron conforme en las tres pruebas. Grado D: máximo 50 UFC/placa, se obtuvo resultados conforme en las tres pruebas.

**TABLA N° 16
CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL DE LA SALA DE ENVASE -
MÉTODO EXPOSICIÓN DE PLACAS CON AGAR TSA**

ESPECIFICACIONES		
SALA	LÍMITES DE ACCIÓN	LÍMITES DE ALERTA
Sala en operación	Grado A: <1 UFC/placa Grado B: Máx. 5 UFC/placa Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado B: Máx. 3 UFC/placa Grado C: Máx. 25 UFC/placa
Sala en reposo	Grado A: <1 UFC/placa Grado B: Máx. 3 UFC/placa Grado C: Máx. 25 UFC/placa	-

Fuente: Elaboración propia.

PRUEBA N° 1							
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado							
Lote: VAL- 181105 ^a							
Método: Exposición de placas con agar TSA							
Tiempo de exposición: 4 hora							
RESULTADOS							
GRADO	UBICACIÓN	REPOSO		Operación 1° parte		Operación 2° parte	
		BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
A	Dentro del flujo laminar de envase (1)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Cerca de la zona de llenado (2)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Faja de ingreso de ampollas vacías hacia el envase (3)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Dentro del flujo laminar que corresponde a la recepción de ampollas (4)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Dentro del flujo laminar de filtración (5)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
B	Afuera del flujo laminar de equipo de envase (6)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Afuera del flujo laminar del área de filtración (7)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Cerca de la puerta de descarga de la autoclave (8)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Pasadizo N° 1 (9)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Pre-área N° 3 (10)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
C	Pre-área N°2 (11)	<1	<1	1	<1	<1	<1
	Pre-área N° 1 (12)	<1	<1	<1	<1	1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>							

PRUEBA N° 2							
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado							
Lote: VAL- 181106B							
Método: Exposición de placas con agar TSA							
Tiempo de exposición: 4 hora							
RESULTADOS							
GRADO	UBICACIÓN	REPOSO		Operación 1° parte		Operación 2° parte	
		BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa	BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa	BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa
A	Dentro del flujo laminar que corresponde al envase (1)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Cerca de la zona de llenado (2)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Faja de ingreso de ampollas vacías hacia el envase (3)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Dentro del flujo laminar que corresponde a la recepción de ampollas (4)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Dentro del flujo laminar de filtración (5)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
B	Afuera del flujo laminar de equipo de envase (6)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Afuera del flujo laminar del área de filtración (7)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Cerca de la puerta de descarga de la autoclave (8)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Pasadizo N° 1 (9)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Pre-área N° 3 (10)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
C	Pre-área N°2 (11)	<1	<1	<1	<1	1	<1
	Pre-área N° 1 (12)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>							

PRUEBA N° 3							
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado							
Lote: VAL- 181107C							
Método: Exposición de placas con agar TSA							
Tiempo de exposición: 4 hora							
RESULTADOS							
GRADO	UBICACIÓN	REPOSO		Operación 1° parte		Operación 2° parte	
		BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
A	Dentro del flujo laminar de envase (1)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Cerca de la zona de llenado (2)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Faja de ingreso de ampollas vacías hacia el envase (3)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Dentro del flujo laminar que corresponde a la recepción de ampollas (4)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Dentro del flujo laminar de filtración (5)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
B	Afuera del flujo laminar de equipo de envase (6)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Afuera del flujo laminar del área de filtración (7)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Cerca de la puerta de descarga de la autoclave (8)	<1	<1	1	<1	<1	<1
	Pasadizo N° 1 (9)	<1	<1	1	<1	<1	<1
	Pre-área N° 3 (10)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
C	Pre-área N°2 (11)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Pre-área N° 1 (12)	<1	<1	<1	<1	<1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>							

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 10 se elaboró la Tabla.

ANALISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con los resultados de la Tabla N° 16 el control microbiológico ambiental de la sala de envasado aséptico por el método de exposición de placas petri, los resultados se encuentran por debajo de las especificaciones señalados para la zona que corresponde al grado A <1 UFC/placa en reposo y en operación. En el grado B los puntos de muestreo se encuentran dentro de los límites en operación máxima 5 UFC/placa y los puntos de muestreo en reposo se encuentran dentro de los límites máximo 3 UFC/placa. En el grado C los puntos de muestreo se encuentran dentro de los límites en operación máximo 50 UFC/placa y los puntos de muestreo en reposo se encuentran dentro de los límites máximo 25 UFC/placa. En la BPM indica que se deben realizar monitoreo durante las operaciones simuladas, cuando se realiza operaciones asépticas el producto está expuesto al ambiente. Las zonas de grado A deben ser monitoreadas a una frecuencia de 4 horas. Los resultados que obtuvieron Fernández López C. y colaboradores (9), en el muestreo microbiológico de ambientes “en reposo”, en la primera prueba los puntos de muestreo estimados cumplen con los límites determinados por la “*USP Cap. 1116*”; con excepción de un punto de muestreo ubicado en la esclusa de salida, mostró un crecimiento de hongos, levaduras y bacterias; reconocidas como cocos Gram positivos y levaduras. Como segunda prueba los puntos de muestreo en el estado “en reposo” tiene como resultado conforme, ya que no se mostró el crecimiento de microorganismos. En la tercera prueba durante el inicio del envasado se evidenció las bacterias en el área adyacente 1 UFC/m³, en la coloración de Gram se identificada como bacilo Gram positivo; el punto de muestreo de la esclusa de salida se tiene como resultados bacterias 3 UFC/m³ y hongos 2 UFC/m³, en la identificación se determina la presencia de las bacterias como cocos Gram positivos y en la esclusa de entrada al envasado se tiene hongos 1 UFC/m³.

TABLA N° 17
CONTROL MICROBIOLÓGICO AMBIENTAL DE LA SALA DE ENVASE POR
MÉTODO MUESTREO VOLUMÉTRICO

ESPECIFICACIONES
Límites (operación)
Grado A < 1 UFC/m ³
Grado B Máx. 10 UFC/m ³

PRUEBA N° 1					
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado					
Lote: VAL- 181105A					
Método: Muestreo volumétrico					
Tiempo de exposición: 1 hora					
RESULTADOS					
		1° PARTE		2° PARTE	
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa	BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa
A	Flujo laminar ubicado dentro de envase	<1	<1	<1	<1
	Flujo laminar ubicado en la recepción de ampollas	<1	<1	<1	<1
	Flujo laminar ubicado en filtración	<1	<1	<1	<1
B	Flujo laminar fuera de envase	1	<1	<1	<1
	Flujo de laminar fuera recepción de unidades de ampollas	1	<1	<1	<1
	Fuera del flujo laminar de filtración	<1	<1	<1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>					

PRUEBA N° 2					
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado					
Lote: VAL- 181106B					
Método: Muestreo volumétrico					
Tiempo de exposición: 1 hora					
RESULTADOS					
		1° PARTE		2° PARTE	
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa	BACTERIAS UFC/ placa	HONGOS UFC/ placa
A	Flujo laminar ubicado dentro de envase	<1	<1	<1	<1
	Flujo laminar ubicado en la recepción de ampollas	<1	<1	<1	<1
	Flujo laminar ubicado en filtración	<1	<1	<1	<1
B	Flujo laminar fuera de envase	1	<1	<1	<1

	Flujo de laminar fuera recepción de unidades de ampollas	1	<1	<1	<1
	Fuera del flujo laminar de filtración	<1	<1	<1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>					

PRUEBA N° 3					
Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado					
Lote: VAL- 181107C					
Método: Muestreo volumétrico					
Tiempo de exposición: 1 hora					
RESULTADOS					
		1° PARTE		2° PARTE	
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa
A	Flujo laminar ubicado dentro de envase	<1	<1	<1	<1
	Flujo laminar ubicado en la recepción de ampollas	<1	<1	<1	<1
	Flujo laminar ubicado en filtración	<1	<1	<1	<1
B	Flujo laminar fuera de envase	<1	<1	<1	<1
	Flujo de laminar fuera recepción de unidades de ampollas	<1	<1	<1	<1
	Fuera del flujo laminar de filtración	<1	<1	<1	<1
RESULTADOS: Conforme <input checked="" type="checkbox"/> No conforme <input type="checkbox"/>					

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 11 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con los resultados la Tabla N° 17 el control microbiológico ambiental de la sala de envase por muestreo volumétrico - aire, este resultado está por debajo de las especificaciones establecidos grado A < 1 UFC/m³ y en grado B máximo 10 UFC/m³, establecidas por OMS, no detectándose ninguna colonia en la zona crítica A y el grado B en reposo y operación. En la BPM indica que se deben realizar monitoreo durante las operaciones simuladas, cuando se realiza operaciones asépticas el producto está expuesto al ambiente. Las zonas de grado A deben ser monitoreadas a una frecuencia de 4 horas controlar todo el tiempo de envase. Según Aro Cruz M. 2014 (13), concluye que durante los monitoreos microbiológicos se observa un valor fuera de especificaciones en el resultado de superficies (piso) es un valor puntual en el lote 0001 y no se repite en los demás lotes. Recomienda hacer un seguimiento minucioso a los

monitoreos microbiológicos de rutina. Por su parte Ríos Afanador JP. Obtuvo que no hay presencia de microorganismos suspendidos en el ambiente en el área de envase como resultados en el control de ambiente.

TABLA N° 18
CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIE DE EQUIPOS E
INSTALACIONES DE LA SALA DE ENVASE POR EL METODO HISOPADO

Especificación:										
Viabiles en superficie (UFC /25cm ²) por método de hisopado			Grado A < 1 UFC/placa							
			Grado B < 5 UFC/placa							
Grado	Punto de muestreo	Puntos de muestreo								
A	N° 1	Cortina de flujo laminar envase								
	N° 2	Mesa bajo flujo laminar envase								
	N° 3	Cortina de flujo laminar filtración								
	N° 4	Faja de ingreso de envase								
	N° 5	Base del equipo de envase								
	N° 6	Faja de ingreso de unidades de ampollas								
	N° 7	En la campa de flujo laminar de la zona interna área de recepción de ampollas								
B	N° 8	Ubicado en la pared sala de ingreso de ampollas								
	N° 9	Pared de sala de filtración								
	N° 10	Pared de la sala de envase								
Resultados										
Prueba	Grado A							Grado B		
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1era Corrida	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	3
2da Corrida	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
3era Corrida	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	2

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°12 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con la Tabla N° 18, el control microbiológico de superficie por el método de hisopado se observa que en las tres pruebas todos los puntos correspondientes al grado A están dentro de los límites < 1 UFC/25cm² y grado B se encuentran dentro de los límites < 5 UFC/25cm² de acuerdo con la USP

vigente <1116> “Control Microbiológico y monitoreo de ambientes de procesamiento aséptico”.

Estos resultados corresponden al muestreo realizado al final del proceso de envasado con el fin de evaluar la parte crítica del proceso. Cumpliendo con el criterio de las BPM se debe realizar el hisopado de las superficies se al finalizar el proceso de envasado considerado como crítico. Aro Cruz M. (13), para demostrar el correcto desempeño del personal, dentro de las actividades de fabricación se realiza por medio de capacitaciones y evaluaciones Se observa que un personal obtuvo en la evaluación escrita de las capacitaciones 60 en el tema de limpieza y sanitización de áreas limpias. Por otro lado, Ugarte L, validó los procesos de limpieza en equipos de fabricación de líquidos orales en una planta farmacéutica privada obteniendo resultados que indican que el equipo se encuentra totalmente libre de contaminantes, por lo que el proceso de limpieza es efectivo para eliminar restos de activos.

TABLA N° 19
CONTROL MICROBIOLÓGICO EN UNIFORMES DEL PERSONAL POR EL
METODO DE PLAQUEO USP <1116>

Especificación									
Grado A <1 UFC/placa									
Grado B máximo 5 UFC/placa									
PUNTOS DE MUESTREO			Cierre – Pecho (P-C) guante derecho (GD) guante izquierdo (GD) Antebrazo derecho (AD)				Antebrazo izquierdo (AI) Pierna derecha (PD) Pierna izquierda (PI)		
RESULTADOS									
1era parte en proceso de envase (operación)									
PRUEBA	GRADO	PERSONAL	P-C	GD	GI	AD	AI	PD	PI
1° Prueba	A	Operador N°1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Operador N° 2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	B	Operador N°3	<1	<1	<1	<1	<1	3	3
	A	Mantenimiento	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
2° Prueba	A	Operador 1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Operador 2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	B	Operador 3	<1	<1	<1	<1	<1	2	1
	A	Mantenimiento	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
3° Prueba	A	Operador 1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Operador 2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	B	Operador 3	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Mantenimiento	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1

RESULTADOS									
2da parte proceso de envase (operación)									
PRUEBA	GRADO	PERSONAL	P-C	GD	GI	AD	AI	PD	PI
1° Prueba	A	Operador N°1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Operador N° 2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	B	Operador N°3	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Mantenimiento	<1	7	<1	<1	<1	<1	<1
2° Prueba	A	Operador 1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Operador 2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	B	Operador 3	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Mantenimiento	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
3° Prueba	A	Operador 1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Operador 2	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	B	Operador 4	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	A	Mantenimiento	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°13 se elaboró la Tabla.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la Tabla N° 19 se observa los resultados del personal encargado de producción son satisfactorios en el grado A están dentro de los límites <1 UFC/placa y en grado B están dentro de los límites máximo 5 UFC/placa de acuerdo con la “USP capítulo <1116> Control Microbiológico y Monitoreo De Ambientes de Procesamiento Aséptico” por el método impresión en placas Rodac. De acuerdo con el criterio BPM que el control microbiológico del personal que los puntos críticos que son los guantes, pecho, antebrazo y tenemos en los resultados aceptables en estos puntos. Para mantener la esterilidad del producto y de los elementos, durante el proceso aséptico la OMS recomienda se debe considerar que la ropa del personal tiene que ser de un material que no elimina pelusas y esterilizado. Se puede observar que el personal cumple con los procedimientos y capacitaciones de comportamiento para el ingreso a salas limpias. Fernández López C. y colaboradores (9), obtuvieron resultados del muestreo en el personal la parte inicial de 1er envasado, el personal perteneciente a la clase 100 obtuvo recuentos microbianos en el uniforme valores dentro la norma, pero se evidencio que a la mitad del proceso de

envasado las botas del personal presentaron (7 UFC/placa). En el 2do envasado en la mitad de proceso el personal de grado A obtuvo resultados no conformes a las especificaciones en los siguientes puntos de muestreo pecho 17 UFC/placa tapaboca 16 UFC/placa, guantes (6 UFC/placa) y escafandra 5 UFC/placa. Para poder controlar cualquier tipo de contaminación indeseable en el área establecieron límites de acción, microbiológicos para operarios ya que estos controles permiten a tiempo detectar posibles desvíos en cuanto al monitoreo microbiológico de esta manera se pueda actuar oportunamente y hacer acciones correctivas. Ríos Afanador JP. obtuvo como resultado en el plaqueo al personal, ausencia de mohos, levaduras y microorganismos resistentes a las condiciones ambientales, el punto de muestreo en guantes se encuentra dentro de las especificaciones con un resultado de índice Cps de 1.334 para un personal y para los demás operarios los resultados conformes.

4.1.4 PEOR CASO DEL PROCESO DE ENVASADO

**TABLA N° 20
TAMAÑO DE LOTE EN LA VALIDACIÓN**

	Tamaño de lote en la validación		
	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Tamaño de lote teórico	11000	11000	11000
Tamaño de lote real	11755	11494	11273

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con la Tabla N° 20: El tamaño de lote en la validación: El número de unidades a llenar con medio de cultivo durante la validación son 11000 unidades, y teniendo en cuenta el criterio de la OMS reporte 45, donde indica la escala a procesar “*la cantidad a procesar debe ser mayor a 10000 unidades*”, por lo tanto, se estableció una cantidad de 11000 ampollas para el llenado aséptico. Cumpliendo con el criterio de las BPM determinar el peor caso. La BPM Se deben “*simular lo más fielmente posible las operaciones reales*”, así como considerar el peor caso, considerando los factores; en cuanto al tamaño de lote la cifra de

envases utilizados para la prueba tienen que ser apto para permitir una estimación válida, también se toma de acuerdo con los criterios de BPM Menos de 5000 unidades, el número de envases para los lotes pequeños tiene que ser igual al tamaño de lote de producción, 5000-10 000 unidades, más de 10000 unidades en este caso se utiliza más de 10000 unidades y cumplir con el criterio para esta cantidad. Ríos Afanador JP. validó el llenado aséptico para la presentación de 20 mL y 10 mL 3000 unidades, tomo el criterio de <5000 unidades que tiene que ser igual a la cantidad de lote industrial y para la presentación de 500 mL, utilizó 200 unidades. Por su parte Levi E. y colaboradores envasaron 5000 unidades de productos estériles.

**TABLA N° 21
VELOCIDAD DE LA MAQUINA**

Velocidad de la máquina			
Velocidad	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Velocidad de la maquina teórica	9600 ampollas /hora	9600 ampollas /hora	9600 ampollas /hora
Velocidad práctica de la maquina	9550 ampollas /hora	9550 ampollas /hora	9550 ampollas /hora

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con la Tabla N°21, del resultado de la velocidad de la máquina de acuerdo con el tamaño de lote y la velocidad a emplear para el producto, se conoce que la velocidad teórica de envase a emplear es aproximadamente 9600 ampollas/hora, teniendo un lote máximo de 82 000 ampollas entonces el envase se desarrollaría en 8.5 horas. Por ello en el estudio se utilizó la misma velocidad para procesar las 11000 ampollas con paradas a intervalos de tiempos para un tiempo total de 8.5 horas. Los siguientes tiempos son: Montaje: 0.5 horas, envase y sellado: 8.5 horas haciendo un total de 9 horas. La velocidad práctica 9550 ampollas/hora en las tres pruebas. Cumpliendo con el criterio de las BPM se simulan las operaciones reales lo más lealmente que se pueda, así como considerar el peor caso, teniendo en cuenta factores tales como: Velocidad de la máquina. Afanador JP. Envase 1000 unidades/ hora aproximadamente con volumen de envase de 2 mL, cumpliendo con el criterio de aceptabilidad la maquina envasadora opero a la velocidad para la cual fue diseñada.

TABLA N° 22
VOLUMEN DE MEDIO DE CULTIVO

VOLUMEN ENVASADO PRIMERA PRUEBA

Rango de volumen neto: 1.90 mL- 2.10 mL

Densidad: 0.985423.

INICIO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	6.977	6.923	6.788	6.99	6.786	6.871	6.997	6.861	6.14	6.781
PESO NETO	2.052	2.025	2.036	1.892	2.024	2.025	2.026	2.0023	2.023	2.027
VOLUMEN DISPONIBLE	2.08235448	2.05495508	2.0661178	1.91998766	2.05394029	2.05495508	2.05596987	2.03191929	2.05292549	2.05698467
PROMEDIO: 2.043010971										
MEDIO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	6.892	6.643	6.875	6.667	6.765	6.998	6.665	6.678	6.899	6.778
PESO NETO	2.033	2.025	2.025	2.018	2.022	2.034	2.022	2.018	2.02	2.018
VOLUMEN DISPONIBLE	2.06307342	2.05495508	2.05495508	2.04785153	2.0519107	2.06408821	2.0519107	2.04785153	2.04988112	2.04785153
PROMEDIO: 2.053432891										
FINAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	6.879	6.677	6.677	6.667	6.887	6.887	6.675	6.776	6.879	6.885
PESO NETO	2.025	2.021	2.012	2.026	2.023	2.019	2.018	2.016	2.019	2.018
VOLUMEN DISPONIBLE	2.05495508	2.05089591	2.04176278	2.05596987	2.05292549	2.04886632	2.04785153	2.04582195	2.04886632	2.04785153
PROMEDIO: 2.049576679										

VOLUMEN ENVASADO SEGUNDA PRUEBA

Rango de volumen neto: 1.90 mL- 2.10 mL

Densidad: 0.9734

INICIO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	7.027	6.973	6.838	7.04	6.836	6.921	7.047	6.911	6.19	6.831
PESO NETO	2.022	1.995	2.006	1.902	1.994	1.995	1.996	1.9723	1.993	1.997
VOLUMEN DISPONIBLE	2.0519107	2.0245113	2.03567402	1.93013559	2.02349651	2.0245113	2.02552609	2.00147551	2.02248172	2.02654089
PROMEDIO: 2.016626362										
MEDIO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	6.902	6.653	6.885	6.677	6.775	7.008	6.675	6.688	6.909	6.788
PESO NETO	2.043	2.035	2.035	2.028	2.032	2.044	2.032	2.028	2.03	2.028
VOLUMEN DISPONIBLE	2.07322135	2.06510301	2.06510301	2.05799946	2.06205863	2.07423614	2.06205863	2.05799946	2.06002904	2.05799946
PROMEDIO: 2.063580818										
FINAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	6.889	6.687	6.687	6.677	6.897	6.897	6.685	6.786	6.889	6.895
PESO NETO	2.035	2.031	2.022	2.036	2.033	2.029	2.028	2.026	2.029	2.028
VOLUMEN DISPONIBLE	2.06510301	2.06104384	2.0519107	2.0661178	2.06307342	2.05901425	2.05799946	2.05596987	2.05901425	2.05799946
PROMEDIO: 2.059724606										

VOLUMEN ENVASADO TERCERA PRUEBA

Rango de volumen neto: 1.90 mL- 2.10 mL

Densidad: 0.9934

INICIO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	7.007	6.953	6.818	7.02	6.816	6.901	7.027	6.891	6.17	6.811
PESO NETO	2.062	2.035	2.046	1.902	2.034	2.035	2.036	2.0123	2.033	2.037
VOLUMEN DISPONIBLE	2.08250241	2.06510301	2.07626573	1.93013559	2.06408821	2.06510301	2.0661178	2.04206721	2.06307342	2.06713259
PROMEDIO: 2.053158897										
MEDIO	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	4.892	4.643	4.875	4.667	4.765	4.998	4.665	4.678	4.899	4.778
PESO NETO	2.053	2.045	2.045	2.038	2.042	2.054	2.042	2.038	2.04	2.038
VOLUMEN DISPONIBLE	2.08336927	2.07525093	2.07525093	2.06814738	2.07220655	2.08438407	2.07220655	2.06814738	2.07017697	2.06814738
PROMEDIO: 2.073728744										
FINAL	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
PESO DE ENVASE	6.899	6.697	6.697	6.687	6.907	6.907	6.695	6.796	6.899	6.905
PESO NETO	2.045	2.041	2.032	2.046	2.043	2.039	2.038	2.036	2.039	2.038
VOLUMEN DISPONIBLE	2.07525093	2.07119176	2.06205863	2.07626573	2.07322135	2.06916218	2.06814738	2.0661178	2.06916218	2.06814738
PROMEDIO: 2.069872532										

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 14 se elaboró la Tabla.

FIGURA N°4 VOLUMEN ENVASADO PRIMERA PRUEBA



FIGURA N°5 VOLUMEN ENVASADO SEGUNDA PRUEBA

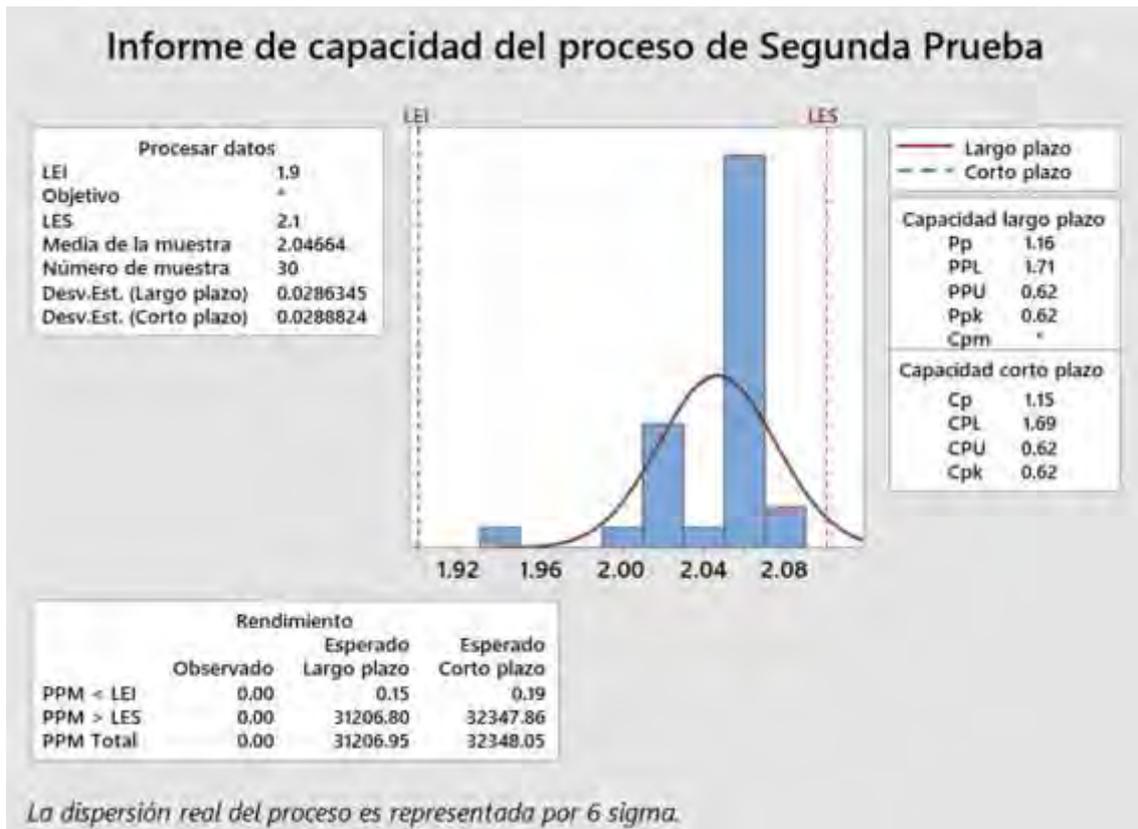
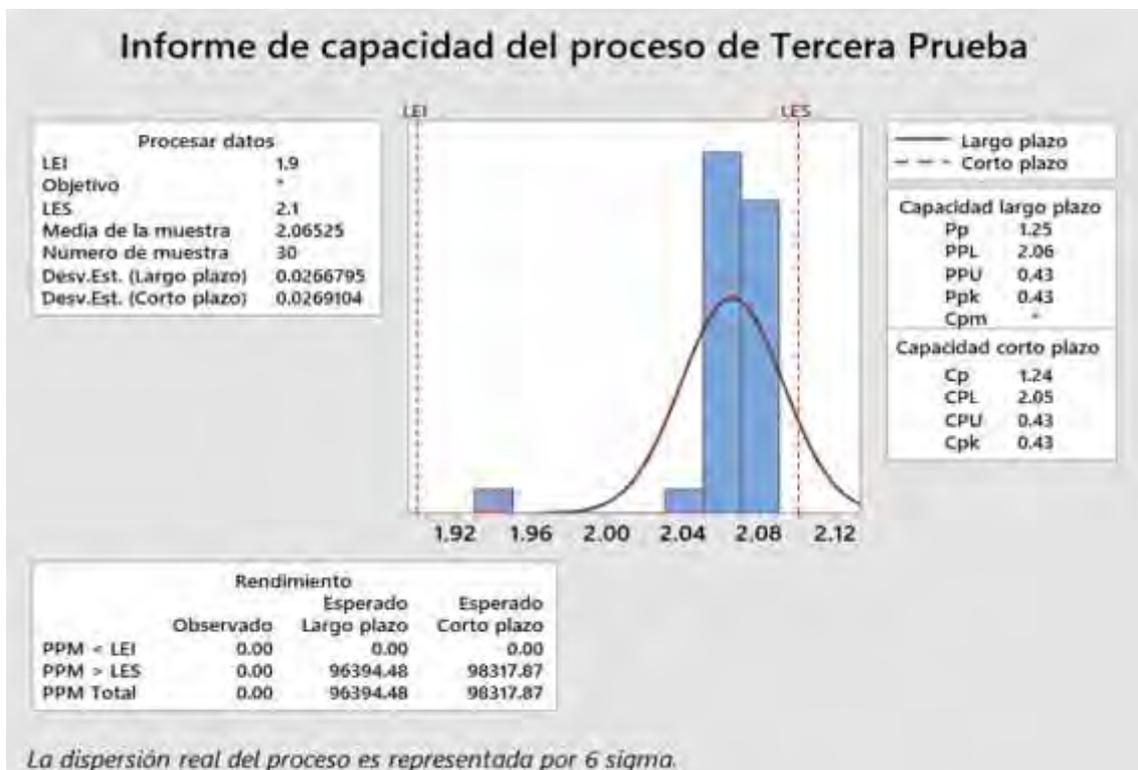


FIGURA N°6 VOLUMEN ENVASADO TERCERA PRUEBA



Resultados de Cp:

“Cp > 1 se dice que el proceso es capaz, pues prácticamente todos los artículos que produzca estarán dentro de las tolerancias requeridas”.

“CP = 1 habrá que vigilar muy de cerca el proceso, pues cualquier pequeño desajuste provocará que los artículos no sean aceptables”.

“CP < 1 se dice que el proceso no es capaz”.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la Tabla N° 22, y la Figuras N°4,5 y 6 referidos a informes de capacidad de proceso de la primera prueba, volumen de envasado de medio de cultivo el valor de Cp es mayor a 1, por lo tanto, infiere que el proceso de envasado es capaz, ya que todos los volúmenes que se envasen estarán dentro de las tolerancias de acuerdo a especificaciones y es reproducible. Se observa los volúmenes promedios de medio de cultivo durante el envasado se encuentran dentro de los parámetros establecidos internamente volumen neto 1.90 mL a 2.10 mL. El volumen promedio es 2.0510. Cumpliendo con el criterio de las BPM, donde se simula las operaciones reales lo más lealmente posible, así como considerar la situación del peor caso, teniendo en cuenta factores tales como: Volumen a envasar. Ríos Afanador JP. para evaluar la robustez y solides del llenado aséptico realizó tres envasados consecutivos con 3 volúmenes diferentes 2 mL, 10 mL y 500 mL y envasó cada volumen por 1 día. Obteniendo resultados dentro de las especificaciones y los volúmenes establecidos.

**TABLA N° 23
TIEMPO TOTAL DE OPERACIÓN**

Prueba	Lote de medio de cultivo	Fabricación		Envase		Total de horas de envase
Prueba 1	VAL-181105A	Fecha 05-11-2018		Fecha 06-11-2018		9 h
		Hora de inicio	Hora final	Hora de inicio	Hora final	
		09:00 h	10:40 h	9:00 h	6:00 h	
Prueba 2	VAL-181106B	Fecha 06-11-2018		Fecha 07-11-2018		9 h
		Hora de inicio	Hora final	Hora de inicio	Hora final	
		8:30 h	10:10 h	9:15 h	18:15 h	
Prueba 3	VAL-181107C	Fecha 07-11-2018		Fecha 08-11-2018		9 h
		Hora de inicio	Hora final	Hora de inicio	Hora final	
		09:20 h	11:00	8:45 h	17:45 h	

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con la Tabla N° 23 se observa que de acuerdo con la capacidad de la maquina 9600/hora y la cantidad de ampollas a llenar un lote de 82 000 ampollas es un tiempo de 8.5. Durante el llenado aséptico se debe cubrir todo el total de tiempo 8.5 horas realizando paradas cubriendo todo el tiempo de envasado. Montaje de la envasadora es 0.5 horas, envase y sellado 8.5 horas tiempo total de operación 9 horas. El proceso de envase se realizó en línea continua con los procesos de lavado y despirogenación de ampollas. El proceso de envase se realizó con las paradas programadas para alcanzar el tiempo de proceso establecido. Durante las paradas programadas se mantuvieron los equipos encendidos y el personal dentro de las instalaciones a excepción durante el almuerzo. La validación del tiempo es importante porque disminuye el tiempo improductivo y observas las posibles mejoras continuas.

TABLA N° 24
NÚMERO DE PERSONAS QUE PARTICIPA EN EL PROCESO

Simulación/ Funciones	Personal que participa en el proceso			
	Envasador	Apoyo de descarga de ampollas envasadas, dentro de la sala de envase	Apoyo en el trasladar ampollas, fuera de la sala de envase	Mantenimiento
Prueba 1	Operador 1	Operador 2	Operador 3	Mantenimiento
Prueba 2	Operador 1	Operador 2	Operador 3	Mantenimiento
Prueba 3	Operador 1	Reemplazo	Operador 3	Mantenimiento

Fuente: Elaboración propia.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

De acuerdo con la Tabla N° 24 se observa que en total participan 3 personas en el proceso de llenado aséptico en las 3 pruebas, personal debidamente capacitadas en operaciones en área estéril y un personal de mantenimiento.

En la sala de envase, operador 1 encargado del manejo de la envasadora y operador 2 encargados de apoyo de descarga de ampollas llenadas y selladas en bolsas de polietileno.

El operador 3 ubicado en la sala de recepción de ampollas (sala fuera de envase) y puede ingresar a la sala de envase cubriendo cualquier necesidad que se pueda presentar en el proceso general. Traslada las ampollas envasadas en bolsas de polietileno hacia el UV y puede salir al exterior. Adicionalmente se considera dentro del proceso el ingreso de personal de encargado de mantenimiento que realizará una intervención simulando de ante cualquier dificultad en el desempeño de la envasadora. Se verificó que se requiere un máximo de 4 personas dentro de la sala de envase. Para ingresar a las salas de envasado al personal se califica, entrena. Cumpliendo con los criterios de la OMS en las áreas limpias sólo el mínimo personal requerido está presente para el proceso aséptico. El número de personas se define con el peor caso tomando los criterios de las BPM. Luque S. y colaboradores diseñaron un Proyecto de un Sistema de Gestión de la Calidad de un laboratorio y la Validación concurrente del proceso productivo de oxígeno medicinal en aerosol, en el que el sistema está compuesto por 14 personas, analizaron las fortalezas, oportunidades,

debilidades y amenazas (FODA) del personal y el cumplimiento de la BPM en el proceso productivo para oxígeno medicinal, como resultado se obtuvo el diseño del proyecto de un sistema de gestión de la calidad y la validación del proceso productivo, contribuyen al aseguramiento de la calidad del producto.

4.2 RESULTADOS DE LA ESTERILIDAD DE LAS AMPOLLAS ENVASADAS POR LLENADO ASÉPTICO

**TABLA N° 25
INSPECCIÓN DE LAS AMPOLLAS ENVASADAS**

Totales	Lotes de envase			Promedio
	1° Prueba	2° Prueba	3° Prueba	
N° unidades envasadas incubadas	11332	11076	10851	11086
N° unidades envasadas inspeccionadas	11332	11076	10851	11086
N° unidades contaminadas	0	0	0	0
RESULTADO				Estéril

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 16 y 17 se elaboró la Tabla.

CRITERIO DE ACÉPTACIÓN DE ACUERDO CON EL TAMAÑO DE LOTE	
Tamaño de lote de producción (Número de envases llenados)	Recomendación
Más de 10000 unidades:	<i>“Una unidad contaminada debe dar lugar a una investigación. Dos unidades contaminadas se consideran motivo de revalidación tras la investigación”.</i>

Fuente: Adaptado de la OMS informe técnico N° 961, año 2011 y BPM.

ANÁLISIS Y DISCUSIÓN:

En la Tabla N° 25, En la primera prueba las unidades envasadas incubadas son 11332, en la segunda prueba las unidades envasadas incubadas son 11076 y la tercera prueba las unidades envasadas incubadas son 10851; la inspección de

ampollas envasadas durante y después de la incubación de 20 a 25 °C por 7 días y de 30 a 35 °C hasta completar los 14 días se observa que no hay presencia de unidades contaminadas, por tanto las unidades envasadas por llenado aséptico es estéril, lo cual cumple el criterios establecidos por la OMS y las BPM para tamaños de lote de mayor a 10000 unidades: Una unidad contaminada debe dar lugar a una investigación o dos unidades contaminadas se consideran motivo de revalidación tras la investigación. Por tanto, no se realiza ninguna investigación ni revalidación porque no se encontró ninguna unidad contamina. De acuerdo con Aro M. (13), demostró que el proceso de envasado por llenado aséptico está controlado, mediante el llenado de medio de cultivo caldo Casoy, trabajando en las mismas condiciones de fabricación del producto. los resultados que obtuvo son los tres lotes ensayados demostraron resultados conformes, según recomendaciones de normativas. Por otro lado, Fernández C y colaboradores validaron una metodología propuesta para la validación de un llenado aséptico en un proceso de liofilización, obtuvieron como resultado la validación de llenado aséptico, no cumplió debido a la deficiencia de cumplimiento de las BPM.

Mientras que, Ríos Afanador y colaboradores realizaron una validación preliminar del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables, demostraron que no hubo crecimiento de microbiano en el proceso y se encuentra bajo control de esterilidad en un 94.1%, obtuvo cero contaminaciones en la presentación de 2 mL, 10 mL y 500 mL. Por su parte, De Giorgi I y colaboradores realizaron la validación del período de esterilidad de los viales después de múltiples muestreos bajo y fuera de flujo laminar vertical Grado B, como resultado obtuvieron Demuestran que no hubo crecimiento de M.O y valida los múltiples usos de viales y pueden almacenarse fuera del flujo laminar. En Grado B. Por su lado, Leví E. y colaboradores validaron del proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos como resultados obtuvieron que la validación y los controles fisicoquímicos y microbiológicos están dentro de los parámetros establecidos por la OMS, USP, ISPE.

CONCLUSIONES

1. El proceso de llenado aséptico en el área de inyectables de un laboratorio de fabricación de productos farmacéuticos estériles fue validado, demostrando que el llenado aséptico es consistente y reproducible cumpliendo con las especificaciones de calidad, y se obtuvo productos terminados estériles.
 - Los resultados de control de Bioburden se encuentran dentro de las especificaciones máx. 50 UFC /40ml.
 - Las pruebas de integridad de filtro y están dentro de los parámetros de aceptación de la prueba integridad de filtro de 3200 mbar a 4500 mbar.
 - La esterilidad del medio de cultivo, mediante la prueba de esterilidad conforme a la USP es conforme.
 - La actividad del medio de cultivo, caldo digerido de caseína y soja mediante la prueba de promoción de crecimiento y promueve satisfactoriamente el crecimiento de los microorganismos gram positivos y gram negativos, levaduras y hongos.
 - La esterilidad en las ampollas vacías, mediante la prueba de esterilidad, son estériles.
 - El control de endotoxinas en las ampollas vacías mediante la prueba de Endotoxinas Bacterianas son apirógenas.
 - El control microbiológico de puntos de muestreo definidos para ambientes, equipos, superficies y personal y se encuentran dentro de los límites establecidos por la USP.
 - Se demostró la capacidad del proceso aséptico tomando en cuenta el proceso representativo del peor caso: Tamaño de lote de la validación de llenado aséptico es de 11000 unidades, la velocidad de la maquina es de 9550 ampolla/hora.
 - La capacidad de proceso de las tres pruebas de volumen de envasado de medio de cultivo, el valor de Cp es > 1 por lo tanto el proceso es capaz y reproducible. Además, se obtuvo un tiempo total de envasado aséptico de 8.5 horas, y se estableció que se requiere 4 personas durante el proceso de llenado aséptico.

2. Las ampollas envasadas por proceso de llenado aséptico son estériles no presentan la ausencia de turbidez, no hay presencia de unidades contaminadas, durante y después de la incubación a temperatura 20 °C a 25 °C y 30 °C a 35 °C durante 14 días, y cumpliendo los criterios establecidos por las BPM y OMS.

SUGERENCIAS

1. A las autoridades de DIGEMID

La presente tesis se puede utilizar como referencia bibliográfica ya que reúne información vigente y puede ser utilizado para las inspecciones de las autoridades de DIGEMID ante los laboratorios que producen productos estériles.

2. A los laboratorios farmacéuticos que producen productos estériles:

Se recomienda realizar las validaciones de llenado aséptico cada 6 meses, estableciendo en el Plan Maestro de validación los cronogramas. Asimismo, establecer las condiciones del peor caso conforme los procesos que realizan y pueden tomar como referencia el presente trabajo.

Además, se sugiere, implementar un control de tendencias por puntos y promedios de resultados de control microbiológico ambiental para establecer un rango óptimo de control, cumpliendo en todo momento con las Buenas Prácticas de Manufactura y cumplir los lineamientos y regulaciones establecidas por la autoridad sanitaria DIGEMID y evitar sanciones y lo más importante la fabricación de productos de buena calidad.

3. A los estudiantes de UNSAAC de la escuela de Farmacia y Bioquímica:

A los compañeros de la escuela de Farmacia y Bioquímica, se sugiere a los compañeros de la escuela de Farmacia y Bioquímica, se puedan inclinar hacia la industria Farmacéutica al ser este un sector en el que se puedan desarrollar profesionalmente. Una de las áreas que implica hacer estudios, controles e investigación es el área de validaciones donde podrían ver temas como validación de métodos analíticos, de procesos asépticos, de procesos no asépticos, de limpieza y de sistemas computarizados. Tomar como referencia el presente trabajo de investigación para validaciones en procesos asépticos.

GLOSARIO DE TÉRMINOS

Área crítica: “Área limpia en la cual el producto, envases primarios y cierre estériles se encuentran expuestos a las condiciones diseñadas para preservar la esterilidad. Entre las operaciones realizadas en la misma se encuentra conexiones asépticas, adición de ingredientes estériles, manipulaciones de materiales estériles previo y durante el llenado y cierre.” (7)

Área limpia: “Área diseñada, construida y mantenida con el objeto de tener dentro de límites establecidos el número de partículas viables y no viables en superficies y medio ambiente.” (7)

Área (zona o ambiente) Grado A: “Área o zona donde se realizan las operaciones de máximo riesgo, por ejemplo, el llenado y las conexiones asépticas. Tal condición se logra mediante una estación de trabajo de flujo laminar, el cual está provisto de un flujo de aire homogéneo con una velocidad de aproximadamente $0.45 \text{ m/s} \pm 20\%$ en la posición de trabajo.”

Área (zona o ambiente) Grado B: “Ambiente que rodea la zona de grado A durante la preparación aséptica y el llenado.” (7)

Área (zona o ambiente) Grado C y D: “Áreas limpias para llevar a cabo operaciones menos críticas en la producción de productos estériles.” (15)

Biocarga: “Número total de microorganismos viables que pueden estar presentes en Insumos o materiales de partida y productos intermedios. La biocarga no se debe considerar contaminación a menos que supere los límites establecidos o el tipo de microorganismos definidos como objetables.” (7)

Calibración: “Conjunto de operaciones que establece, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, registro y control, o los valores representados por una medición del material, y los correspondientes valores conocidos de un patrón de referencia.” (7)

Calificación (Aplicado a instalaciones, sistemas y equipos). – “Acción de demostrar que cualquier instalación, sistema y equipo, trabaja correctamente y conduce a la obtención de resultados esperados.” (7)

Contaminación: “Presencia de impurezas de naturaleza química o microbiológica o cualquier material extraño, ya sea sobre un insumo o producto

intermedio durante la producción, muestreo, empaque o reempaque, almacenamiento o distribución.” (7)

Desviación: *“Alejamiento o variación accidental de una instrucción aprobada o estándar establecido, que afecta o puede afectar potencialmente la calidad de un producto en proceso y/o que representa un incumplimiento a criterios establecidos.” (7)*

Despirogenización: *“La eliminación de todas las sustancias pirogénicas incluyendo las endotoxinas bacterianas, y se logra generalmente por separación o inactivación. Las endotoxinas bacterianas constituyen el pirógeno más significativo y en la mayoría de las situaciones el más resistente. Puesto que las condiciones requeridas para la destrucción de endotoxinas destruirán otros pirógenos, en este tipo de estudios se acepta el término despirogenización en su generalización.” (7)*

Esclusa: *“Lugar cerrado, con dos o más puertas que se interponen entre dos o más recintos, con distinto grado de limpieza, a fin de controlar el flujo de aire entre ellos. Una esclusa es diseñada para ser usada por el personal como para los equipos y/o materiales.” (7)*

Estéril: *“Libre de cualquier microorganismo viable que ha sido eliminado por medios térmicos o químicos.” (7)*

Esterilidad: *“Según la definición más estricta de esterilidad, un artículo se considera estéril en ausencia absoluta de microorganismos viables. Viable, para organismos, se define como la capacidad para reproducirse. La esterilidad absoluta no puede demostrarse de manera práctica debido a que es técnicamente imposible demostrar una ausencia absoluta. Asimismo, la esterilidad absoluta no puede demostrarse de manera práctica sin analizar todos los artículos en una partida. La esterilidad se define estadísticamente como una probabilidad de que la contaminación de un artículo sea aceptablemente remota.” (38)*

Esterilización: *“Proceso utilizado para hacer que un producto esté exento de microorganismos viables” (7)*

Estabilidad: *“Aptitud de un principio activo o de un producto para mantener sus propiedades originales dentro de las especificaciones relativas a su identidad, concentración o potencia, calidad, pureza y apariencia física.” (7)*

Envasado: “Operaciones de llenado a las que tiene que ser sometido un producto farmacéutico para estar en su envase primario.” (7)

Fabricante: “Laboratorio que lleva a cabo operaciones tales como producción, envasado, empaque o acondicionamiento, re-empaque o reacondicionamiento de productos farmacéuticos.” (7)

Flujo difusivo: “Es el flujo de aire comprimido por unidad de tiempo a través de un líquido que se encuentra humectando los poros de una membrana a una presión de prueba de entre 70% - 80% del valor de punto de burbuja del filtro. El flujo difusivo es proporcional a: La presión del gas, la solubilidad del gas, la porosidad, grosor, y área de la membrana El flujo se incrementa rápidamente con el flujo abierto a través de los poros abiertos.” (7)

Indicadores Biológicos: “Preparaciones estandarizadas de microorganismos seleccionados para comprobar la eficacia de los procesos de esterilización y/o despirogenización.” (7)

Limpieza: “Acción de reducir los niveles de partículas no viables a niveles establecidos.” (7)

Llenado aséptico: “Operación por medio de la cual un producto es esterilizado a través de un filtro estéril con poros de tamaño nominal de 0.22um (o menos) o de uno que tenga características equivalentes de retención de microorganismos y colocados en recipientes previamente esterilizados.” (7)

Llenado de medios:

“Simulación microbiológica de un proceso aséptico mediante el uso de medios de crecimiento procesados de manera similar al procesamiento del producto y usando el mismo sistema de envase y cierre.” (38)

Mantenimiento de estado validado:

Para mantener el estado validado, se debe realizar la evaluación del cumplimiento como mínimo de los siguientes sistemas:

- a) Control de cambios
- b) Calibración
- c) Mantenimiento
- d) Limpieza y sanitización
- e) Calificación de personal
- f) Autoinspecciones y auditorias de calidad
- g) Desviaciones

- h) *Monitoreo ambiental*
- i) *revisión periódica de producto*

Cuando se detecten tendencias de resultados de cualquiera de los sistemas antes mencionados que puedan afectar la calidad del producto, incluyendo seguridad, eficacia, así como trazabilidad de datos, debe evaluarse y determinarse la necesidad de una nueva calificación o validación.

Monitoreo ambiental: *“Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado.” (7)*

Muestra: *“Parte o porción finita representativa de materias primas, materiales de envase y empaque o producto que se somete a análisis a los efectos de verificar las características de calidad o su adecuación para su uso.” (7)*

No conformidad: *“Incumplimiento de un requisito establecido oficialmente.” (7)*

Prueba de integridad: *“La prueba de integridad (IT) es una prueba no destructiva usada para determinar que la membrana de un filtro grado esterilizante está intacta, sin daño, y que es funcional para ser utilizada en aplicaciones de filtración estéril.” (31)*

Prueba de Punto de Burbuja: *“El filtro se moja con el fluido de prueba. Se aplica aire o nitrógeno y lentamente se incrementa la presión hasta que se detecta un flujo abierto a la salida del filtro. Se basa en el modelo del poro capilar. El poro se moja debido a la tensión superficial del líquido y el ángulo de contacto de la superficie del poro mojado. Los poros mojados bloquean el flujo de aire a una baja P . La presión de aire requerida para expulsar el líquido de humedecimiento e iniciar un flujo abierto es proporcional al diámetro del capilar.” (31)*

Peor caso: *“Condición o conjunto de condiciones que abarcan límites y circunstancias superiores e inferiores de proceso, dentro de procedimientos estandarizados, que poseen la mayor oportunidad de falla en el proceso cuando se compara con condiciones ideales. Tales condiciones no inducen necesariamente a fallas en el producto o proceso” (7)*

Plan Maestro de Validación: *“Documento que especifica la información referente a las actividades de validación que la organización debe realizar, donde se definen detalles y escalas de tiempo para cada trabajo de validación a ejecutar. Las responsabilidades relacionadas con dicho plan deben estar establecidas en el documento.” (7)*

Proceso crítico: “Una operación en el proceso de manufactura que puede causar variación en la calidad del producto farmacéutico”. (7)

Promoción de crecimiento del medio de cultivo: “Analizar cada envase de medio de cultivo de manera cada Analizar cada envase de medio de cultivo de manera de verificar la aptitud de este para su uso. Si el medio se prepara a partir de los ingredientes analizar todos los lotes elaborados. Si se trata de medios listos para usar, asegurar la calidad de estos. Para medios sólidos diferenciales, el crecimiento obtenido con los microorganismos de prueba sembrados en superficie no debe diferir en un factor mayor de 2 respecto del obtenido con un envase previamente aprobado. Puede reemplazarse por el método ecométrico o por el método Miles Misra. Las colonias desarrolladas deben mostrar las características típicas del microorganismo. Los medios líquidos deben presentar evidencia visual de crecimiento dentro de los 3 días de incubación a 30 – 35 °C, o bien durante un tiempo no mayor que el período menor indicado en la prueba correspondiente considerando, la temperatura requerida por el mismo. El número de microorganismos a inocular debe ser menor a 100 UFC.” (35)

Riesgo: “Probabilidad de ocurrencia de un evento adverso dentro del sistema de atención de salud o un factor que incremente tal probabilidad.” (7)

Sanitización: “Eliminar o reducir los niveles de partículas viables por medio de agentes físicos o químicos, posterior a la actividad de limpieza.” (7)

Temperatura ambiente: “Temperatura considerada hasta 30°C y con excursiones de 32°C.” (7)

Temperatura ambiente controlada: “Temperatura mantenida termostáticamente entre 20°C y 25°C.” (7)

Validación: “Acción que demuestra, en forma documentada, que un proceso, equipo, material, actividad o sistema conduce a los resultados previstos.” (7)

Validación concurrente: “Validación que se lleva a cabo durante la manufactura de un producto y está basada en los datos recogidos durante la ejecución efectiva de un proceso que ya se ha implementado en una planta de producción. Se requieren como mínimo tres lotes del producto.” (7)

Validación prospectiva: “Validación que se lleva a cabo después de la transferencia de tecnología y antes de la distribución del producto. Se requieren como mínimo tres lotes del producto. Si se fabrican lotes de tamaño reducido, cada lote debe corresponder a no menos del 10% del tamaño de los lotes

industriales o una cantidad equivalente a la capacidad mínima del o de los equipos industriales a ser utilizados. De darse el último caso, este debe ser sustentado técnicamente. En el caso de formas farmacéuticas sólidas, debe ser como mínimo 100 000 unidades o 10% del lote industrial el que sea mayor.” (7)

Validación retrospectiva: *“Validación que involucra la evaluación de experiencias pasadas de manufactura en un número suficiente y representativo de lotes que mantienen reproducibilidad en sus condiciones.” (7)*

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Agalloco, James; Carleton F. Validation of Pharmaceutical Processes. Third. Vol. 28. 2008. 1–6 p.
2. World Health Organization. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. [Internet]. World Health Organization technical report 45. Switzerland; 2011. Available from: <https://www.who.int/publications/i/item/9789241209618>
3. PDA. Process simulation Testing for Sterile Bulk Pharmaceutical Chemicals [Internet]. USA; 2006. Available from: <https://www.pda.org/bookstore/product-detail/4345-tr-28-sterile-bulk-pharmaceutical-chemicals>
4. Chaloner G, Anderson R, Egan A. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF) [Internet]. Switzerland; 1998. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/64975/WHO_VSQ_97.02_spa.pdf?sequence=2
5. WHO. WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Thirty-sixth Report [Internet]. Vol. 1, World Health Organization. Switzerland; 2002. Available from: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/42613/1/WHO_TRS_908.pdf
6. Ansari IA, Datta AK. An Overview of Sterilization Methods for Packaging Materials used in Aseptic Packaging Systems. Trans IChemE [Internet]. 2003;81(Part C). Available from: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0960308503703538>
7. DIGEMID. Manual de Buenas Prácticas de Manufactura [Internet]. Diario oficial. 2018. p. 2008–10. Available from: <https://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Normatividad/2018/DS-021-2018.pdf>
8. World Health Organization. Guidelines to develop measures to combat counterfeit drugs [Internet]. Switzerland; 2006. Available from: <http://www.who.int/medicines/services/counterfeit/faqs/QandAsUpdateJuly11.pdf>
9. Fernandez C, Moreno D, Arias J, Manuel J. Metodología para la validación

- de un llenado aséptico en un proceso de liofilización. Scielo [Internet]. 2007;41(1):1–14. Available from:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152007000100004
10. FDA. Sterile Drug Products Current Good Manufacturing Practice Guidance for Industry. Filtration [Internet]. 2004;(September):1–63. Available from:
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm070342.pdf>
 11. Nash RA, Watcher AH. Pharmaceutical Process Validation [Internet]. Third. Pharmaceutical Process Validation. 2003. Available from:
https://scholar.google.com.pe/scholar?q=Nash+R,+Wachter+A.+Pharmaceutical+Process+Validation&hl=es&as_sdt=0&as_vis=1&oi=scholar
 12. González C. Validación retrospectiva y control estadístico de procesos en la industria farmacéutica [Internet]. Universidad de Chile; 2005. Available from: http://www.cybertesis.cl/tesis/uchile/2005/gonzalez_c/html/
 13. Aro M. Validación del procesos de llenado aséptico de soluciones parenterales de pequeño volumen [Internet]. Sistema web de digitalización de libro de acta de notas. Universidad Mayor de San Andrés; 2014. Available from: <https://repositorio.umsa.bo/handle/123456789/9903>
 14. Ríos Afanador JP. Validación preliminar del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables del laboratorio Vicar Farmacéutica S.A. [Internet]. Pontificia Universidad Javeriana; 2007. Available from:
<https://repository.javeriana.edu.co/handle/10554/8351#.YVeRLeb0xHl.mendeley>
 15. De Giorgi I, Sadeghipour F, Favet J, Bonnabry P. Sterility validity period of vials after multiple sampling under vertical laminar airflow hood. J Oncol Pharm Pract. 2005;11(2):57–62.
 16. Medina H, Jara W. Validación de un sistema de tratamiento de agua grado inyectables. Universidad Mayor de San Marcos; 2003.
 17. Leví E, Cotrina P, Portilla Lecca DM, Saavedra EFC. Validación del proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos de un laboratorio farmacéutico. Pueblo Cont [Internet]. 2015;26(1):167–77. Available from:
<https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/1343>

18. Villegas campos JJ. Validación del proceso de esterilización por calor humedo de solución isotónica inyectable cloruro de sodio 0.9% x 1000mL, Lima. Septiembre -Noviembre del 2007 [Internet]. Universidad Nacional de Trujillo; 2008. Available from:
<https://dspace.unitru.edu.pe/handle/UNITRU/2958>
19. Ugarte L, Orccosupa J. Validación de procesos de limpieza en equipos de fabricacion de liquidos orales en una planta Farmaceutica privada - Limaco [Internet]. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Available from: <http://repositorio.unsaac.edu.pe/handle/20.500.12918/1783>
20. Luque S, Rosa M. Diseño de proyecto de un sistema de gestión de calidad de un laboratorio productor de oxígeno y validación del proceso productivo de oxígeno medicinal en aerosol 2012 [Internet]. Universidad Nacional de San Antonio Abad del Cusco. Universidad Nacional De San Antonio Abad Del Cusco; 2018. Available from:
<http://repositorio.unsaac.edu.pe/bitstream/handle/UNSAAC/2874/253T20171097.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
21. Fabricación C interinstitucional de BP de. Buenas Practicas de Validación [Internet]. México; 2006. Available from:
<https://online.fliphtml5.com/xruk/saqf/#p=1>
22. PDA. Technical Report No. 60: Process Validation: A Lifecycle Approach [Internet]. Vol. 1. USA; 2013. Available from:
<https://www.pda.org/bookstore/product-detail/1931-tr-60-process-validation>
23. Center of Drug Evaluation and Research. Guidance for Industry: Submission Documentation for Sterilization Process Validation in Applications for Human and Veterinary Drug Products [Internet]. 1994. Available from:
<https://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM072171.pdf>
24. Agalloco J, Baseman H, Akers J, Boeh R, Elinski D, Lampe K. Process Simulation for Aseptically Filled Products : PDA Technical Report No . 22 (Revised 2011). Vol. 22. 2011.
25. Pharmaceutical inspection convention pharmaceutical inspeccion co - operation scheme. Recommendation on the validation of aseptic processes

- [Internet]. Vol. 22. Switzerland; 2011. Available from: https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/PI_007-6_Recommendation_on_Aseptic_Processes.pdf
26. OMS. Comité de Expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas - Informe 34 Anexo 6 [Internet]. Ginebra; 1996. Available from:
http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/42258/WHO_TRS_863_spa.pdf;jsessionid=87640747DDAA56C1F1B05BC0463E4AF6?sequence=1
 27. World Health Organization. WHO Good Manufacturing Practices for Sterile Pharmaceutical Products -Annex 6 [Internet]. WHO Technical Report 45. 2011. Available from:
https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/GMPSterilePharmaceuticalProductsTRS961Annex6.pdf
 28. ANMAT. Disp. ANMAT 3827 [Internet]. 2018. p. 291. Available from:
http://www.anmat.gov.ar/boletin_anmat/BO/Disposicion_3827-2018.pdf
 29. Medicamentos C para el CE de la C de los. Buenas prácticas para la fabricación de productos estériles [Internet]. Cuba; 2000. Available from:
<http://www.bvv.sld.cu/docs/regulaciones/Cecmed007.pdf>
 30. Moia E, Wheeler F. El criterio de diseño de una sala limpia farmacéutica. Ind Farm [Internet]. 2000;55–63. Available from:
<http://setefa.co.cr/images/disesalalimpia.pdf>
 31. Farmacopea de los estados de America. Esterilización de líquidos por filtración. In: usp [Internet]. 43rd ed. USA; 2020. p. 4–11. Available from:
<https://www.usp.org/espanol>
 32. Ballew HW, Martinez FJ, Markee C, Eddleman R. The ABCs of Filtration and Bioprocessing for the Third Millennium [Internet]. Spectrum Laboratories. USA; 2002. 163 p. Available from:
<https://www.yumpu.com/en/document/view/28617071/abcs-of-filtration-bioprocessing-spectrum-laboratories-inc>
 33. Engineering IS for P. Agua para uso Farmacéutico. Argentina; 2009.
 34. Farmacopea de los estados de America. Prueba de esterilidad. In: usp [Internet]. 43rd ed. USA; 2020. p. 1–2. Available from:
<https://www.usp.org/espanol>
 35. Farmacopea de los estados de America. Pruebas de eficacia

- antimicrobiana. In: USP [Internet]. 43rd ed. 1891. p. 49–52. Available from: <https://www.usp.org/espanol>
36. America F de los estados de. Examen microbiológico de productos no estériles: Pruebas de recuento microbiano. In: USP [Internet]. 46th ed. 2020. p. 1–2. Available from: <https://www.usp.org/espanol>
37. Farmacopea de los Estados de America. Prueba de endotoxinas bacterianas. In: USP [Internet]. 43rd ed. USA; 2020. p. 1–3. Available from: <https://www.usp.org/espanol>
38. Farmacopea de los estados de America. Control Microbiológico y monitoreo ambiental de procesamiento aseptico. In: USP [Internet]. 43rd ed. USA; 2020. p. 1–2. Available from: <https://www.usp.org/espanol>
39. Biskup J, Crichton M, Davis B, Farquharson G. Sterile Product Manufacturing Facilities [Internet]. Second. Baseline Pharmaceutical Engineering Guide. USA; 2016. 1–226 p. Available from: <https://www.healthcarepackaging.com/home/press-release/13283770/ispe-baseline-guide-sterile-product-manufacturing-facilities-second-edition>

ANEXOS

ANEXO N°1

PROTOCOLO O CERTIFICADO DE CALIDAD DEL FILTRO

Opticap® XL 2 Capsule Durapore® Membrane

Hydrophilic 0.22 µm Rated
CAT. NO. KVGLA02HH3
LOT NO. C8PA24765
Manufacture Date: Nov 2016

Good Manufacturing Practices

This product was manufactured in a facility which adheres to Good Manufacturing Practices.

ISO® 9001 Quality Standard

This product was manufactured in a facility whose Quality Management System is approved by an accredited registering body to the appropriate ISO 9001 Quality Systems Standard.

Quality Design and Performance Criteria Animal Origin Statement

Based on the current information from our suppliers, all component materials used in the manufacture of this device are either animal free or in compliance with EMA/410/01.

Non-Fiber Releasing

This product was manufactured with a Durapore membrane which meets the criteria for a "non-fiber releasing" filter as defined in 21 CFR 210.3 (b) (6).

Alcohol Reference Test

Sterilizing-grade (0.22 µm) hydrophilic Durapore membrane is certified to a bubble point equal to or greater than 18.5 psi (1280 mbar) in a 70/30% IPA/water mixture with nitrogen at 23 °C.

Toxicity

Component materials meet the criteria of the USP <88> Reactivity Test for Class VI Plastics. These products meet the requirements of the USP <88> Safety Test, utilizing a 0.9% sodium chloride extraction.

Indirect Food Additive

All component materials meet the FDA Indirect Food Additive requirements cited in 21 CFR 177-182.

Gravimetric Extractables

The extractables level was equal to or less than 10 mg per capsule after 24 hours in water at controlled room temperature.

Multiple Sterilization Cycles

Capsule integrity was maintained after 3 autoclave cycles of 60 minutes at 128 °C.

European Pressure Equipment Directive

EMD Millipore Corporation certifies that this product complies with the European Pressure Equipment Directive, 97/23/EC of 29 May 1997. This product has been classified under Article 3 § 3 of the Pressure Vessel Directive. It has been designed and manufactured in accordance with sound engineering practice to ensure safe use. In compliance with Article 3 § 3 of this Pressure Vessel Directive, this product does not bear the CE mark.

Quality Lot Release Criteria

Bacterial Retention

Samples were quantitatively retentive of a minimum *Brevundimonas diminuta* challenge concentration of 1×10^7 CFU/cm² using ASTM® F838 methodology.

USP Bacterial Endotoxins

A sample aqueous extraction contains less than 0.5 EU/mL as determined by the Limulus Amebocyte Lysate (LAL) test.

100% Integrity Testing in Manufacturing

Each device must pass the EMD Millipore Integrity Test correlated to the *Brevundimonas diminuta* ASTM F838 bacterial challenge test.

Integrity

Samples exhibited a water bubble point equal to or greater than 50.0 psi (3450 mbar) using air as a test gas at 23 °C.

Hydraulic Stress

Samples maintained integrity after sterilization and a forward stress to 80 psi (5.5 bar) and a reverse stress to 50 psi (3.4 bar).

Flow Rate and Pressure Drop

Samples met a maximum pressure drop of 13.7 psi (945 mbar) at 1.0 gpm (3.8 l/min) with water at 23 °C.

USP Oxidizable Substances

Effluent was negative after a water flush of 500 ml, per autoclaved sample.



Justin Hocter
Quality Manager
Manufacturing Site: Jaffrey, NH

TRADUCCIÓN PROTOCOLO O CERTIFICADO DE CALIDAD DEL FILTRO

Clasificado como membrana hidrofílica de 0,22 um
CAT.NO. KVGLA02HH3
LOTE NO, C6PA24765
Manufacturado el noviembre 2016

BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA

Este producto se fabricó en una instalación que cumplen las buenas prácticas de fabricación.

NORMA DE CALIDAD ISO 9001

Este producto fue fabricado en una instalación cuyo sistema de gestión de calidad está aprobado por un organismo de registro acreditado según la norma de sistemas de calidad ISO 9001 correspondiente.

DISEÑO DE CALIDAD Y CRITERIO DE RENDIMIENTO DECLARACIÓN DE ORIGEN ANIMAL

En base a la información actual de nuestros proveedores, todos los materiales de los componentes utilizados en los criterios para un filtro no liberan fibra, y están libres de material de origen animal, en conformidad con EMA / 410/01.

NO LIBERACIÓN DE FIBRAS

Este producto se fabricó con una membrana Durapore que cumple con los criterios para un filtro "sin liberación de fibra" como se define en 21 CFR 210.3.

PRUEBA DE REFERENCIA DE ALCOHOL

La membrana Durapore hidrófila de grado de esterilización de 0,22 um está certificada a un punto de burbuja igual o superior a 18,5 psi (1280 mbar) en una mezcla de 70/30% de IPA / agua con nitrógeno a 23 ° C.

TOXICIDAD

Los materiales de los componentes cumplen con los criterios de la prueba de reactividad USP <88> para PLÁSTICOS de clase VI. Estos productos cumplen con los requisitos de la prueba de seguridad USP <88>, que utiliza un cloruro de sodio al 0.9%.

ADITIVO DE ALIMENTOS INDIRECTOS

Todos los materiales componentes cumplen con los requisitos de aditivos alimentarios indirectos de la FDA citados en 21 CFR 177 -182.

EXTRACTABLES GRAVIMÉTRICOS

El nivel de extraíbles fue inferior o inferior a 10 mg por cápsula después de 24 horas en agua a temperatura ambiente controlada.

CICLOS DE ESTERILIZACIÓN MÚLTIPLE

La integridad de la cápsula se mantuvo después de 3 ciclos de autoclave de 60 minutos a 126 ° C.

DIRECTIVA EUROPEA DE EQUIPOS A PRESIÓN

La corporación EMD Millipore certifica que este producto cumple con la directiva europea sobre equipos a presión, 97/23 / EC de 29 de mayo de 1997. Este producto ha sido clasificado según el artículo 3 de la directiva sobre recipientes a presión. Ha sido diseñado y fabricado de acuerdo con las prácticas de ingeniería de sonido para garantizar un uso seguro. De conformidad con el artículo 3 de esta directiva sobre recipientes a presión, este producto no lleva la marca CE.

CRITERIOS DE CALIDAD LOTE LIBERADOS Retención bacteriana

Las muestras fueron retentivas cuantitativamente de una concentración mínima de desafío de *Brevundimonas diminuta* de 1×10^7 UFC/cm² utilizando la metodología ASTM f838.

ENDOTOXINAS BACTERIANAS USP

Una muestra acuosa de extracción contiene menos de 0.5 UE / mL según lo determinado por la prueba de *Limulus Amebocyte lysata* (LAL) .

PRUEBAS DE INTEGRIDAD AL 100% EN LA FABRICACIÓN

Cada dispositivo debe pasar la prueba de integridad del Millipore de EMD correlacionada con la prueba de desafío bacteriana ASTM F838 de *Brevundimonas diminuta*.

INTEGRIDAD DE FILTRO

Las muestras mostraron un punto de burbuja de agua, igual o superior a 50 psi (3450 mbar) utilizando aire como gas de prueba a 23 ° C.

ESTRÉS HIDRAULICO

Las muestras mantuvieron la integridad después de la esterilización y una tensión directa a 80 psi (5,5 bar) y una tensión inversa a 50 psi (3,4 bar).

TASA DE FLUJO Y CAÍDA DE PRESIÓN

Las muestras alcanzaron una caída máxima de presión de 13.7 psi (945 mbar) a 1.0 gpm (3.8 L / min) con agua a 23 ° c.

SUSTANCIAS OXIDABLES DE USP

El efluente fue negativo después de una descarga de agua de 500 mL por muestra autoclavada

ANEXO N°2

PUNTOS CRÍTICOS A CONTROLAR

ETAPA DE PROCESO	PUNTOS CRÍTICOS A CONTROLAR
Etapa previa al proceso de manufactura	Sistemas de apoyos críticos (sistema de tratamiento de agua, calefacción, ventilación y aire acondicionado (HVAC), sistema de vapor), salas (áreas), equipos/instrumentos.
Etapa de fabricación	Control de bioburden
	Prueba de integridad de filtro: Por el método punto de burbuja
	Promoción de crecimiento de medio de cultivo
	Monitoreo ambiental de sala Método de exposición de placas
Etapa de envase	Monitoreo ambiental de sala Método de exposición de placas Método muestreo volumétrico
	Prueba de esterilidad de ampollas
	Control de endotoxinas de ampollas
	Esterilidad para conexiones asépticas
	Control microbiológico de superficie de equipos e instalaciones Método de hisopado
	Control microbiológico de personal: Método de plaqueo.
	Tamaño de lote, volumen de medio de cultivo, tiempo total de operación, número de personas
	Incubación de unidades envasadas (Tiempo y Temperatura)
	Inspección de las ampollas Visualización de turbidez

ANEXO N°3**FORMATO PARA VERIFICAR EL ESTADO DE VALIDACIÓN Y CALIFICACIÓN**

ESTADO DE VALIDACIÓN & CALIFICACIÓN			Código : FR-001 Versión : 01	
ITEMS	CÓDIGO	VERIFICACIÓN DE ESTADO		
		VALIDADO	CALIFICADO	
1.-SISTEMA DE TRATAMIENTO AGUA:	Agua para inyección	A001		
2.- CALEFACCIÓN, VENTILACIÓN Y AIRE ACONDICIONADO (HVAC)	Aire acondicionado	D001		
	Aire comprimido	D002		
3.- SISTEMA DE VAPOR	Vapor Industrial	E001		
	Vapor puro	E002		
4.- SALAS (ÁREAS):	Fabricación (grado C)	B001		
	Filtración (grado A en B)	B002		
	Envase (grado A en B)	B003		
	Recepción de ampollas (grado C)	B004		
	Lavado de ampollas (grado B)	B005		
5.- EQUIPOS/INSTRUMENTOS	Balón de vidrio de 20L	No aplica		
	Tanque presurizador x 50 L	No aplica		
	Portafiltro de 293mm	No aplica		
	Flujo Laminar (Filtración)	C001		
	Autoclave	C002		
	Lavadora ultrasónica vertical	C003		
	Túnel de despirogenación	C004		
	Envasadora y selladora de ampollas	C005		
	Flujo laminar (Recepción ampollas)	C006		
	Flujo laminar (Faja de la envasadora)	C007		
	Flujo laminar (Zona de envasado)	C008		
Flujo Laminar (Producto envasado)	C009			

COMENTARIOS:

ANEXO N°4

FORMATO DE REPORTE DE BIOBURDEN DEL MEDIO DE CULTIVO

REPORTE DE BIOBURDEN	Código: FR-002 Versión : 01
-----------------------------	--------------------------------

PRODUCTO: _____

LOTE N°: _____

FECHA DE FAB: _____

ESPECIFICACIONES SEGÚN TIPO DE ESTERILIZACIÓN:

FECHA DE INICIO DE ANÁLISIS: _____

Filtración Estéril: (Máx. 50 UFC/40mL)

FECHA DE TÉRMINO DE ANÁLISIS: _____

Calor Húmedo a 121 °C: (Máx. 250 UFC/40mL)

ANALIZADO POR: _____

Calor Húmedo a menos 121°C: (Máx. 100 UFC/40mL)

Lluvia de agua sobrecalentada a menos de 121 °C: (Máx. 100 UFC/40mL)

RESULTADOS:
RTMA: _____ UFC/40 mL
RTCHL: _____ UFC/40 mL

LOTES DE MEDIO DE CULTIVO:
Agar Digerido de caseína y soya: _____
Agar Sabouraud dextrosa: _____
Líquido D/agua peptonada/Tween: _____

CONCLUSIÓN: CONFORME NO CONFORME

OBSERVACIONES: _____

RTMA: Recuento total de microorganismo aerobios
RTCHL: Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras

ANEXO N°5

HOJA DE REPORTE DEL TEST DE PUNTO DE BURBUJA

Test de filtro Sartocheck 4plus

* No. de aparato: 0025402499 *

* No. de pros. : 5 *

Test del punto de burbuja

Fecha: Tiempo

Usuario:

181016-727-0025402499.s4r

Datos de protocolo:

Departamento :Producción

Lugar de producto:Envasado

Producto: .

Lote de producto: ...

Filtro: Capsula -Millipore

Parámetros de test

Clase de test :Estándar

P.B min. :3200 mbar

P.B máx. :4500 mbar

Escala de presión:50 mbar

Volumen Neto:Auto

Resultados de test:

Punto de burbuja:

Volumen neto:

Evaluación:

Firma:

ANEXO N° 7

FORMATO DE REPORTE DE LA PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO

PRUEBA DE PROMOCIÓN DE CRECIMIENTO DEL MEDIO DE CULTIVO	Código : FR-013 Versión : 01
--	-------------------------------------

MEDIO DE CULTIVO:

LOTE:

FECHA DE EXPIRA:

TEMPERATURA DE INCUBACIÓN:

RESULTADOS

N° LOTE DE MEDIO PREPARADO	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>C. albicans</i> 10231	<i>A. brasiliensis</i> 16404	<i>P. aeruginosa</i> 9027	<i>S. aureus</i> 6538	<i>C. sporogenesis</i> 11437	<i>K. rhizophila</i> 9341	<i>E. coli</i> 8739	<i>S. typhimurium</i> 14028
MEDIO DE CULTIVO PARA EL ENSAYO DE:				ESTERILIDAD			PRUEBA DE RENCUENTO MICROBIANO Y MICROORGANISMOS ESPECIFICOS		

leyenda: Buen crecimiento (+) Pobre crecimiento (+/-) Crecimiento negativo (-)

ANEXO N°8

FORMATO DE REPORTE DE LA PRUEBA DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS

PRUEBA DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS		Código: FR-003
		Versión : 01
Artículo a evaluar:	N° de Lote:	Tamaño de lote:
Principio activo:	Tamaño de muestra:	Cantidad analizada por fracción de envase/Carga autoclave:
Solicitado por:	Fecha de recepción:	Analizado por:
Fecha de inicio del análisis	Fecha de término del análisis:	

Método de ensayo según:	Método Armonizado: USP <85> Prueba de endotoxinas Bacterianas		
Especificaciones:	No más de : 0.25 UE usp/mL	Tipo de Método	Técnica de coagulación (Gel clot)

Máxima dilución válida (MDV)	Dilución de trabajo:	
Lote de reactivos:		
PyrotellUE/mL):	Control Estandar de endotoxinas (CSE):	Agua LAL:

I.- PRUEBA DE SENSIBILIDAD DEL PYROTELL

(Sensibilidad medida del lisado: > 0.5 λ y < 2 λ)

TUBO N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO

II.- ENSAYO DE LA MUESTRA

CARGA <input type="checkbox"/> FRACCIÓN <input type="checkbox"/>	M		C(+)		M		C(+)		M		C(+)		M		C(+)		C: CUMPLE NC: NO CUMPLE R: REPETIR
	M	C(+)	M	C(+)	M	C(+)	M	C(+)	M	C(+)	M	C(+)	M	C(+)			
1																	
2																	
RESULTADO																	

Legenda: Negativo: - Positivo: + M: Muestra C(+): Control positivo de muestra

CRITERIOS DE ACEPTACIÓN:

Luego de incubar a 37°C ± 1°C durante 60 ± 2 minutos

(+) Presenta gel firme al invertir 180°

(-) No presenta gel firme al invertir 180°

OBSERVACIONES: _____

CONCLUSIÓN:

La muestra del producto analizado:

CUMPLE

NO CUMPLE

ANEXO N°9

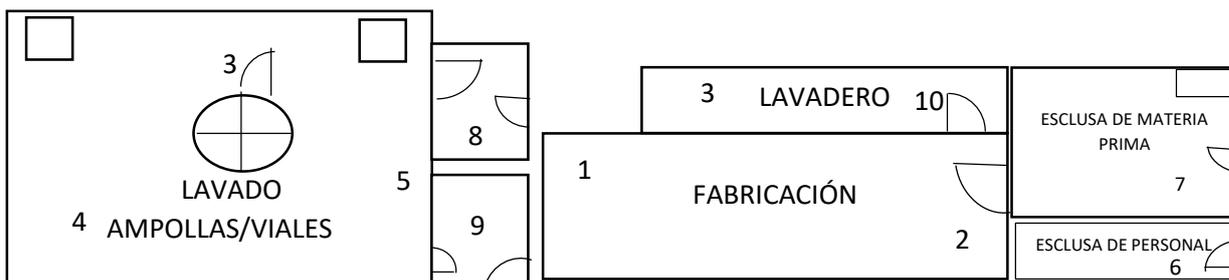
FORMATO DE CONTROL AMBIENTAL POR EXPOSICIÓN DE PLACAS

CONTROL AMBIENTAL DE SALAS LIMPIAS DE FABRICACIÓN Y LAVADO DE AMPOLLAS – MÉTODO EXPOSICIÓN DE PLACAS CON AGAR TSA	Código: FR-004 Versión : 01
--	------------------------------------

PRODUCTO: LOTE:
 FECHA DE EXPOSICIÓN:HORA DE INICIO EXP.:.....HORA FINAL EXP.:
 DESINFECTANTE USADO:
 REALIZADO POR:
 FECHA DE LIMPIEZA DE LA SALA:
 TEMPERATURA: HUMEDAD:.....

ESPECIFICACIONES:

Límites de acción	Límites de alerta
Grado C: Máx. 50 UFC/placa Grado D: Máx. 100 UFC/placa	Grado C: Máx. 30 UFC/placa Grado D: Máx. 50 UFC/placa



Resultados				
GRADO	UBICACIÓN	BACTERIAS UFC/placa	HONGOS UFC/placa	RESULTADO
C	Ingreso de ampollas/viales (3)			
	Sala de lavado ampollas/viales (4)			
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas (5)			
	Sala de fabricación (1)			
	Sala de fabricación (2)			
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales (9)			
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales (8)			
	Esclusa de personal sala de fabricación (6)			
	Esclusa de materia prima sala de fabricación (7)			
	Lavadero sala de fabricación (10)			

RESULTADO: CONFORME

NO CONFORME

ANEXO N°10

FORMATO DE CONTROL AMBIENTAL POR EXPOSICIÓN DE PLACAS

CONTROL AMBIENTAL DE LAS SALAS LIMPIAS DE ENVASE DE AMPOLLAS POR EL METODO DE EXPOSICIÓN DE PLACAS

Código : FR-008

Versión : 01

PRODUCTO :
LOTE:
REALIZADO POR:
FECHA DE EXPOSICION:
HORA DE INICIO DE EXPOSICION:
FECHA DE LIMPIEZA DE LA SALA: DESINFECTANTE USADO:
TEMPERATURA (°C): HUMEDAD RELATIVA (%):

(Especificación T°: 15 °C -25 °C, HR: Referencial)

METODO: Placas de sedimentación

ESPECIFICACIONES:	"Buenas practicas de manufactura de productos parmaceuticos esteriles OMS reporte 43 anexo 4, 2010"	
SALA	LÍMITE DE ACCIÓN	LÍMITE DE ALERTA
Sala en operación	Grado A : <1 UFC/placa Grado B: Máx. 5 UFC/placa Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado B: Máx. 3 UFC/placa Grado C: Máx. 25 UFC/placa
Sala en reposo	Grado A : <1 UFC/placa Grado B: Máx. 3 UFC/placa Grado C: Máx. 25 UFC/placa	-

RESULTADOS			
GRADO	PUNTOS DE MUESTREO	UBICACIÓN	CONTEO: UFC/PLACA
A	1	Dentro del flujo laminar de envase	
	2	Cerca de la zona de llenado	
	3	Ingreso de ampollas vacías	
	4	Dentro del flujo laminar de recepción de ampollas	
	5	Dentro del flujo laminar de filtración	
B	6	Fuera del flujo laminar de envase	
	7	Fuera del flujo laminar de filtración	
	8	Cerca de la puerta de descarga del autoclave	
	9 *	Pasadizo N° 1	
	10 *	Pre área N° 3	
C	11 *	Pre área N°2	
	12 *	Pre área N° 1	

* Solo se exponen en estado de reposo

CONCLUSIÓN

CONFORME:

NO CONFORME:

ANEXO N°11

FORMATO DE CONTROL AMBIENTAL POR METODO VOLUMETRICO

CONTROL AMBIENTAL DE LAS SALAS LIMPIAS DE ENVASE POR EL MÉTODO VOLUMETRICO	Código : FR-009 Versión : 01
---	---------------------------------

PRODUCTO TRABAJANDO :

LOTE:

FECHA DE EXPOSICION:

HORA DE INICIO DE EXPOSICION:

HORA FINAL DE EXPOSICIÓN :

METODO: Control volumetrico por impactación de aire en placa con agar

REALIZADO POR:

FECHA DE LIMPIEZA DE LA SALA:

TEMPERATURA (°C):

HUMEDAD RELATIVA (%): (Especificación T°: 15 °C -25 °C, HR: Referencial)

ESPECIFICACIONES	
Grado A : <1 UFC/ m ³	Grado C: 100 UFC/m ³
Grado B: Máx. 10 UFC/ m ³	Grado D: 200 UFC/ m ³

GRADO	UBICACIÓN	RESULTADOS		
		Bacterias UFC/Placa	Hongos UFC/Placa	N° Probable UFC/ m ³
A	Dentro del flujo laminar de envase (1)			
	Dentro del flujo laminar recepción de ampollas (2)			
	Dentro del flujo laminar de filtración (3)			
B	Fuera de flujo laminar de envase (4)			
	Fuera del flujo laminar recepción de ampollas (5)			
	Fuera del flujo laminar de filtración (6)			

CONCLUSIÓN

CONFORME:

NO CONFORME:

ANEXO N° 12

FORMATO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIE, EQUIPOS E INSTALACIONES

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIE DE EQUIPOS E INSTALACIONES	Código : FR-010 Versión: 01
--	--------------------------------

SALA :	FECHA DE MUESTREO :
PRODUCTO :	HORA DE MUESTREO :
LOTE :	REALIZADO POR :
FECHA DE LIMPIEZA DE LA SALA :	TEMPERATURA (°C) :
HUMEDAD RELATIVA (%) :	(Especificación T°: 15 °C -25 °C, HR: Referencial)

METODO: Hisopado

ESPECIFICACIONES	
Grado A : <1 UFC/placa	Grado C: Máx. 25 UFC/placa
Grado B: Máx. 5 UFC/placa	Grado D: Máx. 50 UFC/placa

MICROORGANISMOS* ESPECÍFICOS: Ausentes
--

RESULTADOS:

GRADO	PUNTOS DE	UBICACIÓN	CONTEO: UFC/placa	MICROORGANISMOS ESPECIFICOS *			
				<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>Salmonella sp.</i>
A	1	Cortina de flujo laminar envase					
	2	Mesa bajo flujo laminar envase					
	3	Cortina de flujo laminar filtración					
	4	Faja de ingreso de envase					
	5	Base del equipo de envase					
	6	Faja de ingreso sala de recepción de ampollas					
	7	Parte interna de la campana de flujo laminar sala de recepción de ampollas					
B	8	Pared sala de recepción de ampollas					
	9	Pared de sala de filtración					
	10	Pared de la sala de envase					

* No aplica en salas de mayor grado de clasificación

CONCLUSIÓN CONFORME: NO CONFORME:

ANEXO N° 13

FORMATO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO DE UNIFORME DEL PERSONAL

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE UNIFORME DEL PERSONAL EN PROCESO	Código: FR-011 Versión : 01
---	--------------------------------

SALA :	FECHA DE MUESTREO :
PRODUCTO :	HORA DE MUESTREO :
LOTE :	REALIZADO POR :

METODO: Placas por contacto

ESPECIFICACIONES

Grado A : <1 UFC/placa	Grado C: Máx. 25 UFC/placa
Grado B: Máx. 5 UFC/placa	Grado D: Máx. 50 UFC/placa

RESULTADOS:

UBICACIÓN EN GRADO	PERSONAL	ACTIVIDAD	PUNTO DE MUESTREO						
			Cierre – Pecho	Guante derecha	Guante izquierda	Antebrazo derecho	Antebrazo izquierdo	Pierna derecha	Pierna hisquierra
			CONTEO: UFC/placa	CONTEO: UFC/placa	CONTEO: UFC/placa				
A	Operador 1	Envase							
A	Operador 2	Apoyo en envase							
B	Operador 3	Apoyo fuera de envase							
A	Mantenimiento	Mantemiento							
A	Control de Calidad	Control del personal							

CONCLI CONFORME: NO CONFORME:

ANEXO N° 14

FORMATO DE CONTROL DE VOLUMEN DURANTE EL ENVASADO

CONTROL DE VOLUMEN DURANTE EL ENVASADO	Código: FR-006
	Versión 01

PRODUCTO:

LOTE:

RANGO DE VOLUMEN DISPONIBLE:

RANGO DE VOLUMEN NETO:

FECHA DE INICIO :

FECHA DE TERMINO:

DENSIDAD:

Inicio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	PROMEDIO
PESO DE ENVASE											
PESO NETO											
VOLUMEN DISPONIBLE											

Medio	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	PROMEDIO
PESO DE ENVASE											
PESO NETO											
VOLUMEN DISPONIBLE											

Final	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	PROMEDIO
PESO DE ENVASE											
PESO NETO											
VOLUMEN DISPONIBLE											

Promedio total	
----------------	--

ANEXO N° 15

FORMATO DE REGISTRO DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA

REGISTRO DE TEMPERATURA Y HUMEDAD RELATIVA DURANTE LA INCUBACIÓN	Código: FR-007 Versión : 01
---	--------------------------------

SALA:

PRODUCTO:

FECHA DE INICIO:

HORA DE FINAL:

Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Temperatura de incubación	20 °C – 25 °C							30°C – 35 °C						

Día de incubación	Fecha	T° 9 a.m.	T° 6 p.m.
1			
2			
3			
4			
5			
6			
7			
8			
9			
10			
11			
12			
13			
14			

OBSERVACIONES: _____

ANEXO N°16

FORMATO DE INSPECCION DE AMPOLLAS

INSPECCION DE LAS AMPOLLAS, Y LECTURA DE LAS AMPOLLAS LLENAS DESPUES DE LA INCUBACION	Código : FR-012 Versión : 01
--	---------------------------------

MEDIO DE CULTIVO:

LOTE:

FECHA DE PREPARACION:

FECHA DE EXPIRA:

FECHA DE LLENADO:

N° DE ENVASES LLENADOS:

RESULTADOS:

TIEMPO DE INCUBACION: 20-25 °C			
Día	Fecha	Numero de ampollas contaminadas	verificado por
1°			
2°			
3°			
4°			
5°			
6°			
7°			
TOTAL:			

TIEMPO DE INCUBACION: 20-25 °C			
Día	Fecha	Numero de ampollas contaminadas	verificado por
8°			
9°			
10°			
11°			
12°			
13°			
14°			
TOTAL:			

CONCLU: CONFORME:

NO CONFORME:

ANEXO N° 17**CUADRO DE CONSOLIDADO DE AMPOLLAS ENVASADAS**

Totales	Lotes de envase			Promedio
	1° Prueba	2° Prueba	3° Prueba	
N° unidades envasadas	11755	11494	11273	11507
Ampollas quebradas	4	0	6	3
Ampollas con rajadura	0	0	0	0
Ampollas con volumen bajo	5	0	7	4
Ampollas con puntos negros	0	0	0	0
Ampollas con partículas	0	0	0	0
Ampollas con presencia de películas de vidrio	0	0	0	0
Ampollas con defecto de sellado.	14	18	9	14

ANEXO N° 18

FORMATO DE ANALISIS FISICOQUIMICO DE AGUA PARA INYECCIÓN

ANALISIS FISICOQUIMICO DE AGUA PARA INYECCIÓN							Código: FR-014
							Versión: 01
ENSAYOS	COLOR	OLOR	TEMPERATURA	CONDUCTIVIDAD A 25°C	pH (a 25°C)	CARBONO ORGANICO TOTAL	Resultados
ESPECIFICACIONES	INCOLORO	INODORO	INFORMATIVO	≤ 1.3µS/cm (*)	5.00 – 7.00	Menor a 500 ppb	A= APROBADO R= RECHAZADO
Antes de la lampara UV							
Después de la lampara UV							
Tanque de almacenamiento							
Válvula antes de la alampara UV							
Válvula después de la lampara UV							
Salida del tanque							
Lavadora de ampollas							
Reactor de fabricación							

ANEXO N° 19

FORMATO DE CONTROL DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS EN AGUA PARA INYECCIÓN

CONTROL DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS EN AGUA PARA INYECCIÓN	Código : FR-015 Versión : 01
---	---

LOTE PYROTELL 0,03 UE USP/mL: LOTE AGUA LAL: LOTE CSE: ANALISTA:.....

PUNTOS DE MUESTREOS	Blanco	Control Positivo	Resultados (UE-USP/mL)	Conformidad
Tanque de Almacenamiento	-	+		
Salida del tanque	-	+	< 0.03	C
Antes de la lampara UV	-	+	< 0.03	C
Después de la lampara UV	-	+	< 0.03	C
Lavadora de viales	-	+	< 0.03	C
Reactor de Fabricación	-	+	< 0.03	C
Reactor de Fabricación	-	+	< 0.03	C
Lavadora Truking	-	+	< 0.03	C

Especificación: Máx. 0.25 UE-USP/mL

-* : Leve tendencia incremento C : Conforme - : negativo
 -** : Fuerte tendencia incremento NC : No conforme + : positivo

ANEXO N° 21

DETERMINACIÓN DE BIOCONTAMINACION DE GASES

DETERMINACIÓN DE BIOCONTAMINACIÓN DE GASES	Código: FR-0020 Versión: 01
--	--------------------------------

NOMBRE DE LA SALA: _____

DATOS DE CONTROL: FECHA DE MUESTREO: _____ HORA DE INICIO: _____ HORA FINAL: _____ PRODUCTO EN PROCESO: _____ LOTE _____ OPERARIO: _____

MUESTRA: NITROGENO

ESPECIFICACIONES: ESTERIL

RESULTADOS:

FILTRO	MEDIO DE CULTIVO	DIAS DE INCUBACIÓN														RESULTADO	
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14		
0.22 micras	TIO																Estéril
	CS																Estéril

MEDIOS DE CULTIVO:

MEDIO TIOGLICOLATO (TIO):

CALDO DIGERIDO DE CASEINA Y SOYA (CS)

CONCLUSIÓN: CONFORME NO CONFORME

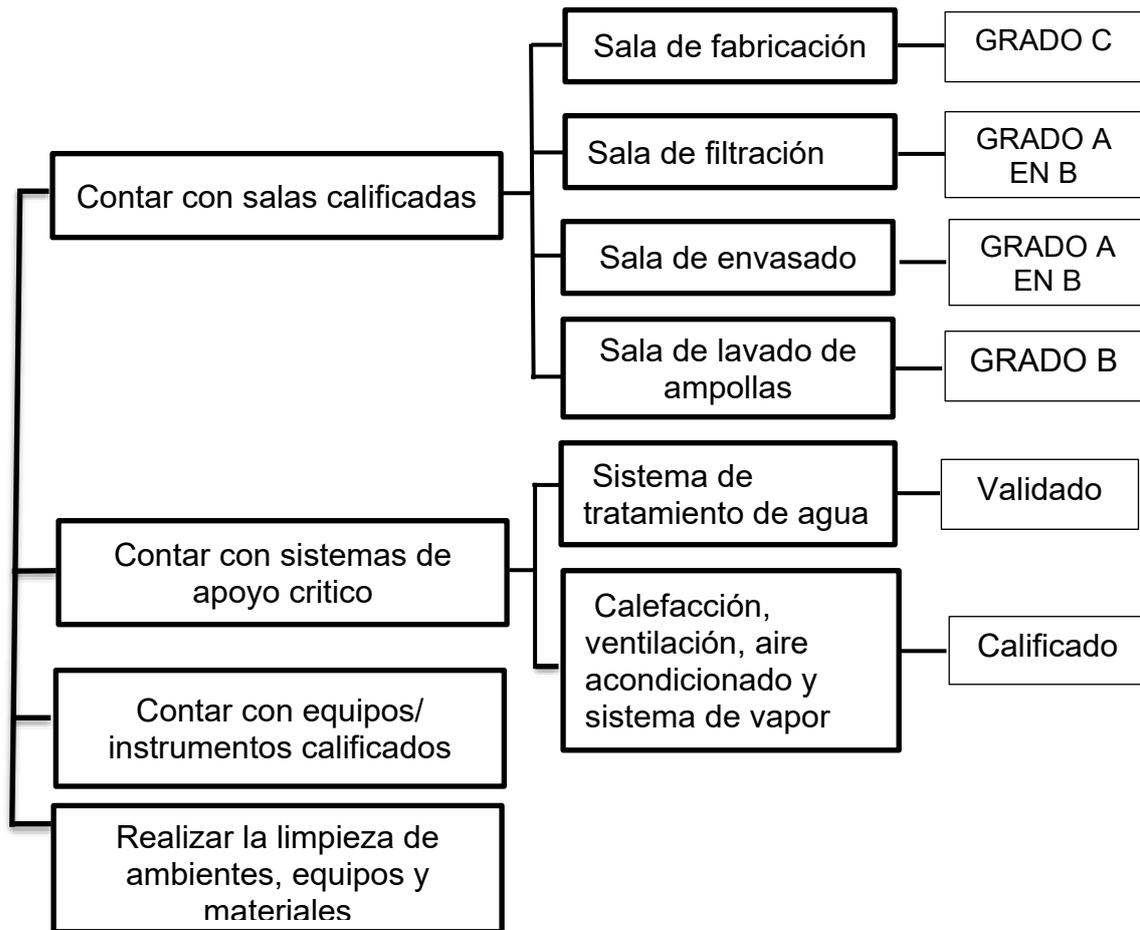
ANEXO N° 22 CONDICIONES PREVIAS

Antes de ejecutar la validación de llenado aséptico se debe verificar el estado de calificación y/o vigencia de los siguientes elementos:

- a) Sistema de Agua
 - Agua para inyección
- b) Áreas
 - Fabricación
 - Filtración
 - Envase
 - Recepción de ampollas
 - Lavado de ampollas
- c) Equipos
 - Flujo laminar (Filtración)
 - Autoclave
 - Lavadora ultrasónica vertical
 - Túnel de Despirogenado
 - Envasadora y selladora de ampollas
 - Flujo laminar (Recepción ampollas)
 - Flujo laminar (Envasadora)
 - Flujo laminar (Ingreso envasadora)
 - Flujo laminar (Producto)
 - Equipo Inspector de ampollas
 - Sartocheck para integridad de filtro
 - Estufa de 20° C – 25° C y estufa de 30° C – 35° C
 - Tanque Presurizador x 50 L
 - Tanque de 50L
- ✓ Agua para inyección
- ✓ Contar con salas calificadas: La sala de fabricación debe ser grado C, la sala de filtración grado A en B, la sala de envasado grado A en B, y la sala de lavado de ampollas grado B. Los parámetros de trabajo de salas son: Presión positiva, temperatura 20°C-25°C y humedad no mayor a 60%.

- ✓ Contar con los sistemas de apoyos críticos (sistema de tratamiento de agua validado, calefacción, ventilación y aire acondicionado (HVAC) calificado, sistema de vapor calificado).
- ✓ Contar con equipos/ instrumentos calificados.
- ✓ Realizar la limpieza de ambientes, equipos y materiales según los procedimientos vigentes.

FLUJOGRAMA DE CONDICIONES PREVIAS



Fuente: Elaboración propia

ANEXO N° 23
ESTADO DE LA VALIDACIÓN Y CALIFICACIÓN

**RESUMEN DEL ESTADO DE VALIDACIÓN Y CALIFICACIÓN DE LOS
SISTEMAS DE APOYOS CRÍTICOS (SISTEMA DE TRATAMIENTO DE
AGUA, CALEFACCIÓN, VENTILACIÓN Y AIRE ACONDICIONADO (HVAC),
SISTEMA DE VAPOR)**

En la tabla, se observa que el 100% de los sistemas de apoyo crítico que intervienen en el proceso de llenado aséptico: Sistema de tratamiento de agua, calefacción, ventilación y aire acondicionado (HVAC), sistema de vapor se encuentran calificados y validados. De acuerdo con la norma para validar el proceso se debe cumplir con los requisitos de contar con Sistema de tratamiento de agua, calefacción, ventilación y aire acondicionado (HVAC), sistema de vapores calificados y validados.

SISTEMA DE TRATAMIENTO DE AGUA	Calificación/Verificación	
	Código	Estado
Agua para inyección	A001	Validado
CALEFACCIÓN, VENTILACIÓN Y AIRE ACONDICIONADO (HVAC)	Calificación/Verificación	
	Código	Estado
Aire acondicionado	D001	Calificado
Aire comprimido	D002	Calificado
SISTEMA DE VAPOR	Calificación/Verificación	
	Código	Estado
Vapor Industrial	E001	Calificado
Vapor puro	E002	Calificado

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 3 se elaboró la Tabla.

ANEXO N° 24
RESUMEN DEL ESTADO DE CALIFICACIÓN SALAS (ÁREAS).

Según Emilio Mola, indica los criterios de diseño para una sala limpia farmacéutica para el cual se deben considerar 3 aspectos principales: Protección del producto, del personal y del del medio ambiente. (28)

En la tabla, se observa que el 100% de las salas que intervienen en el proceso de llenado escéptico se encuentran calificadas: La sala de fabricación calificada en grado C, la sala de filtración calificado en grado A en B, la sala de envase calificado en grado A en B, la sala de recepción de ampollas calificado en grado C, la sala de lavado de ampollas calificado en grado B. De acuerdo con la norma para validar el proceso se debe cumplir con los requisitos de contar las salas limpias calificados.

SALAS (ÁREAS)	Calificación/Verificación	
	Código	Estado
Fabricación (grado C)	B001	Calificado
Filtración (grado A en B)	B002	Calificado
Envase (grado A en B)	B003	Calificado
Recepción de ampollas (grado C)	B004	Calificado
Lavado de ampollas (grado B)	B005	Calificado

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N° 3 se elaboró la Tabla.

ANEXO N° 25

RESUMEN DEL ESTADO DE CALIFICACIÓN Y CALIBRACIÓN DE EQUIPOS /INSTRUMENTOS

En la tabla, se observa que el 100% de los equipos que intervienen en el proceso de llenado escéptico: Flujo Laminar (Filtración), Autoclave, Lavadora ultrasónica vertical, Túnel de despirogenación, Envasadora y selladora de ampollas, Flujo laminar (Recepción ampollas), Flujo laminar (Faja de la envasadora), Flujo laminar (Zona de envasado), Flujo Laminar (Producto envasado) se encuentran calificadas. De acuerdo con la norma para validar el proceso se debe cumplir con los requisitos de contar los equipos/instrumentos

EQUIPOS /INSTRUMENTOS	Calificación	
	Código	Estado
Balón de vidrio de 20 L	No aplica	No aplica
Tanque presurizador de 50 L	No aplica	No aplica
Porta filtro de 293 mm	No aplica	No aplica
Flujo Laminar (Filtración)	C001	Calificado
Autoclave	C002	Calificado
Lavadora ultrasónica vertical	C003	Calificado
Túnel de despirogenación	C004	Calificado
Envasadora y selladora de ampollas	C005	Calificado
Flujo laminar (Recepción ampollas)	C006	Calificado
Flujo laminar (Faja de la envasadora)	C007	Calificado
Flujo laminar (Zona de envasado)	C008	Calificado
Flujo Laminar (Producto envasado)	C009	Calificado

MATERIALES CALIBRADOS		
ITEM	CÓDIGO	VERIFICACIÓN CALIBRADO
Balones de vidrio de 20 L	Bal-01	Calibrado
Termohigrometro digital	TH-001	Calibrado
Balanza	BAL-001	Calibrado
Pipetas volumétricas y graduadas	PIV-001	Calibrado
Matraces aforados	MA-001	Calibrado
Buretas	BR-001	Calibrado
Probetas	PR-001	Calibrado
Vaso precipitado	VP-001	Calibrado

Fuente: Elaboración propia. En base al Anexo N°3 se elaboró la Tabla.

ANEXO N° 26
POE-004-00 MUESTREO Y ENSAYO DE BIOBURDEN

MUESTREO Y ENSAYO DE BIOBURDEN	POE N.º 004-00
---------------------------------------	-----------------------

1. PROPOSITO:

Describir los pasos a seguir para realizar correctamente el muestreo y ensayo de Bioburden

2. ALCANCE:

Este procedimiento aplica al muestreo de las soluciones fabricadas (bulk), que aún no han recibido tratamiento de reducción de carga microbiana y que requieren ser muestreadas para realizarles el “Ensayo de Bioburden”.

3. PROCEDIMIENTO DE LA TOMA DE MUESTRA Y ENSAYO DE BIOBURDEN:

3.1 TOMA DE MUESTRA

- 3.1.1 El personal de Producción (encargado de la fabricación) muestreará la solución fabricada (bulk).
- 3.1.2 Solicitar a la Sección de Microbiología el cucharón de acero (estéril) y el frasco de vidrio con tapa (estéril).
- 3.1.3 Muestrear con un cucharón de acero (estéril), que esté asegurado por la parte superior a la rafia (estéril).
- 3.1.4 Retirar la envoltura del cucharón de acero (estéril) iniciando por la parte del mango, asegurarse la rafia a la muñeca y terminar de retirar la envoltura del cucharón.
- 3.1.5 Retirar asépticamente la tapa del frasco de vidrio estéril, sin tocar la rosca del frasco ni pasar la mano sobre el frasco ya abierto colocando la tapa de forma invertida sobre la cara interna del papel con el que se envolvió el cucharón.
- 3.1.6 Sujetar firmemente el cucharón de acero y con la otra mano coger el frasco de vidrio estéril sin tapa.
- 3.1.7 Introducir cuidadosamente el cucharón de acero al tanque de fabricación, coleccionar un mínimo de 100 mL del bulk. Inmediatamente después verter el contenido en el frasco de vidrio y cerrar con la tapa si tocar la rosca del frasco.

Solución del tanque de fabricación que no se puede muestrear con el cucharón de acero:

- 3.1.8 Cuando el nivel de la solución en el tanque de fabricación (bulk) no puede ser alcanzado con el cucharón, el muestreo se realizará directamente de la válvula inferior del tanque de fabricación.
- 3.1.9 Desinfectar la válvula inferior del tanque de fabricación con alcohol etílico al 70 %, dejar caer una pequeña cantidad (a manera de enjuague de la válvula)
- 3.1.10 Retirar asépticamente la tapa del frasco de vidrio estéril, sin tocar la rosca del frasco ni pasar la mano sobre el frasco ya abierto.
- 3.1.11 Coleccionar un mínimo de 100 mL de bulk directamente en el frasco de vidrio estéril y colocar la tapa al frasco inmediatamente.

- 3.1.12 Cerrar la válvula inferior del tanque de fabricación y enroscar firmemente la tapa al frasco.
- 3.1.13 Colocar la etiqueta al frasco con la muestra indicando los siguientes datos:
- Nombre del producto en bulk.
 - Número de lote.
 - Número de orden de fabricación.
 - Cantidad de muestra.
 - Hora y fecha de la toma de muestra.
 - Nombre de quien realiza el muestreo.
- 3.1.14 El personal de Producción (encargado del transporte de muestras) deberá coordinar inmediatamente con la Sección de Microbiología la entrega de las mismas, a través de la Esclusa de planta (Planta Antigua), Ascensor N° 4 sólo para el traslado de muestras y materiales (INY 1) y Puerta de Acondicionado (SGV 1). El personal de microbiología deberá trasladar las muestras a la Sección de Microbiología y mantenerlas refrigeradas hasta el momento de sus análisis. Las muestras podrán permanecer en refrigeración (2 °C a 8 °C) por un lapso no mayor a 1 hora.
- 3.1.15 El personal que toma las muestras deberá registrar la entrega en “Registro de muestras enviadas a Microbiología para el ensayo de Bioburden”.

3.2 ENSAYO DE BIOBURDEN:

- 3.2.1 En la Sección de Microbiología preparar los siguientes materiales:
- Placas petri 90 mm con Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) estériles.
 - Placas petri 90 mm con Agar Sabraud Dextrosa (DSA) estériles.
 - Membranas de filtración de 0,45 µm (poro) y 47 mm (diámetro).
 - Frascos con Agua Peptonada con Tween 80 estériles.
 - Bandejas plásticas limpias.
 - Pinzas metálicas estériles.
 - Base de Filtración (Manifold) estéril y unidad de filtración “Sartorius” estéril.
 - Paño absorbente antipelusa estéril.
 - Plumón marcador.
 - Frasco de vidrio colector.
 - Jeringas y agujas descartables estériles.
- 3.2.2 El analista deberá ingresar a la Sala de Recuento.
- 3.2.3 Colocar y ajustar las mangueras de conexión del tapón del matraz kitazato a la base de filtración y a la válvula de vacío. Abrir la llave de vacío.

EN FLUJO LAMINAR:

- 3.2.4 Sacar las dos unidades de filtración del empaque de papel glacine con el que fue esterilizado.
- 3.2.5 Retirar los tapones de la parte inferior de cada unidad de filtración y colocar las dos unidades de filtración en los adaptadores de silicona de la base de filtración, (deben encajar completamente).

VERIFICACIÓN DE LA INTEGRIDAD DE LA MEMBRANA:

- 3.2.6 Verificar la integridad de la membrana (membranas infladas, arrugadas, rotas o mal colocadas) para lo cual se agrega a cada unidad de filtración aproximadamente 30 mL de solución de enjuague (agua peptonada con tween 80 estéril).
- 3.2.7 Abrir la llave del vacío, luego la llave de la base de filtración y observar el paso de la solución a través de la membrana. Si el paso de la solución de enjuague es más rápido que lo habitual (100 mL se filtran en 10 segundos), la membrana podría encontrarse rota o mal colocada; por el contrario, si la solución no pasa o es muy lenta, la membrana podría encontrarse inflada o arrugada. En cualquiera de los dos casos la unidad de filtración debe ser retirada y reemplazada por otra.

ANÁLISIS DE LA MUESTRA

- 3.2.8 Rotular una placa con Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) y una placa con Agar Saboraud Dextrosa (DSA) con los datos contenidos en la etiqueta del frasco de muestra.
- 3.2.9 Verter 40 mL de muestra a las dos unidades de filtración (sartorius) y abrir las llaves de las bases de filtración.
- 3.2.10 Enjuagar las membranas con 100 mL de agua peptonada con Tween 80 estéril; terminada la filtración cerrar la llave de la base de filtración.
- 3.2.11 Desenroscar las tapas de las bases de las unidades de filtración, y con ayuda de pinzas estériles retirar las membranas.
- 3.2.12 Transferir las membranas a las placas con TSA estéril y con DSA estéril respectivamente, verificando que queden bien adheridas a la superficie del medio, sin formación de burbujas de aire.
- 3.2.13 Incubar la placa de Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) de 30 °C - 35 °C por 2 días para determinar el número (UFC) de Bacterias y la placa con Agar Saboraud Dextrosa (DSA) de 20 °C - 25 °C por 5 días para determinar el número (UFC) de Mohos y Levaduras.
- 3.2.14 Finalizado el tiempo de incubación contar las colonias (UFC) si las hubiera, proceder a registrar el número, la forma, aspecto y color de las colonias en el formato "Reporte de Bioburden", y proceder a realizar una Tinción Gram para definir el tipo de microorganismo (Gram + ó Gram -).

- 3.2.15 **Especificaciones:**

De acuerdo al tratamiento de reducción de carga microbiana que se realice en los productos se definen las siguientes especificaciones:

- Esterilización por filtración estéril: Máximo 50 UFC/ 40 mL
- Esterilización por calor húmedo a 121 °C o más: Máximo 250 UFC/ 40 mL
- Esterilización por calor húmedo a menos de 121 °C: Máximo 100 UFC/ 40 mL
- Esterilización por lluvia de agua sobrecalentada a menos de 121 °C: Máximo 100 UFC/ 40 mL

3.2.16 **Criterio de aceptación:**

- El ensayo de Bioburden es “Conforme” si presenta resultados menores a la especificación.
- El ensayo de Bioburden es “No conforme” si los resultados son mayores a la especificación, en este caso:
 - Solicitar a la sección de Control de Procesos que muestree el lote del producto terminado esterilizado, “por duplicado”, para realizar el ensayo de esterilidad por duplicado.
 - Informar al jefe del Área de Producción a la que corresponde el bulk, indicando que dicho lote queda en “observación” hasta concluir los ensayos de esterilidad por duplicado.
 - Realizar los muestreos y ensayos de Bioburden correspondientes a 3 lotes consecutivos de bulks fabricados en dicha área para verificar que los resultados se encuentran dentro de especificación.

4. FRECUENCIA:

El ensayo de Bioburden se realiza a los tres primeros lotes del año de cada producto fabricado y cuando sea solicitado por las secciones de Producción en caso de monitoreos y validaciones.

5. REFERENCIA:

No aplica.

ANEXO N° 27
INSTRUCTIVO -001-00 PRUEBA DE INTEGRIDAD DE FILTRO

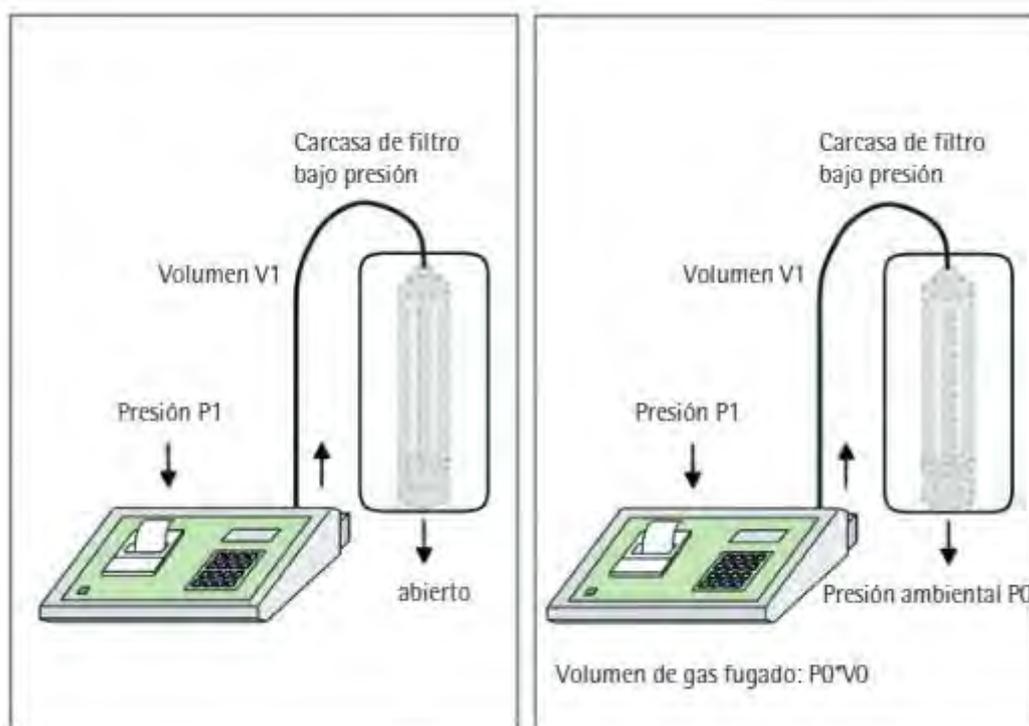
PRUEBA DE INTEGRIDAD DE FILTRO	INSTRUCTIVO N° 001-00
---------------------------------------	----------------------------------

1 PASOS PARA SEGUIR:

1.1 Equipo: Sartocheck ®

1.2 Cuando los cartuchos de filtro estén lo suficientemente humedecidos (consulte las instrucciones de funcionamiento para los respectivos cartuchos de filtro), conecte la carcasa al suministro de presión P1. Durante el tiempo de estabilización, el comprobador de integridad presuriza la carcasa a una presión determinada. Tras finalizar dicha estabilización, cierre la válvula situada aguas arriba y bloquee el volumen del filtro presurizado. La carcasa del filtro con el volumen V1 aguas arriba pasará a estar presurizada a presión P1 (Figura 1). El aire que ha salido por difusión a través del lado del filtro dirigido aguas abajo causa una caída de la presión en la carcasa del filtro. Al finalizar la prueba, la presión en la carcasa del filtro habrá caído hasta alcanzar una presión P2.

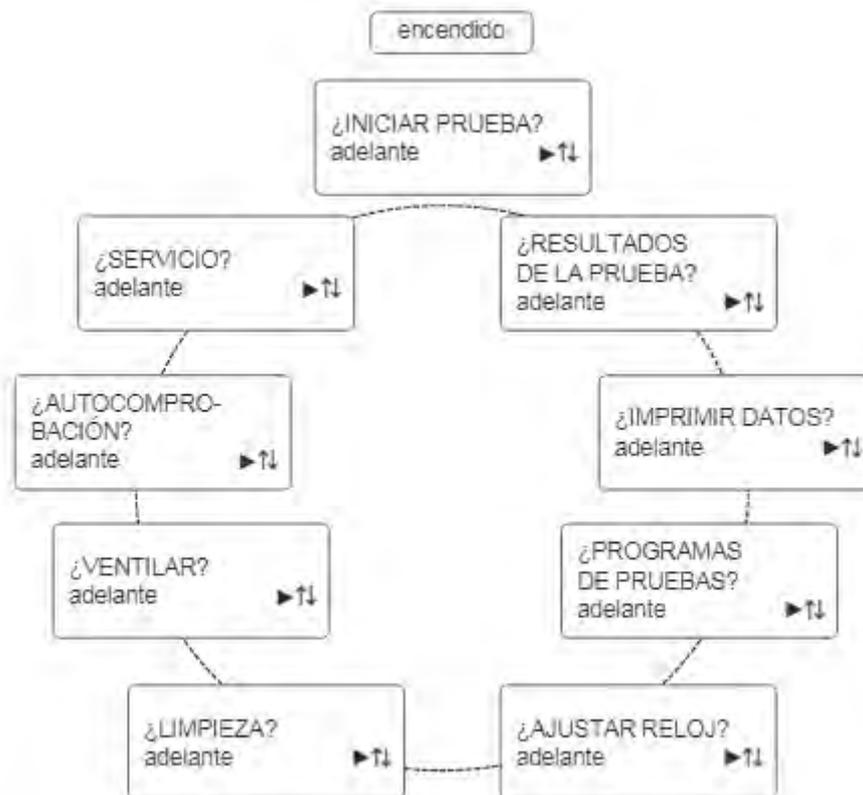
FIGURA 1



Resumen y diagrama de funcionamiento general

En el siguiente gráfico aparecen representadas las interconexiones de las funciones:

En el siguiente gráfico aparecen representadas las interconexiones de las funciones incluidas en Sartochek® mini. Las funciones principales se presentan en sus ventanas en pantalla; para acceder a ellas hay que avanzar hacia delante o hacia atrás con ayuda de las teclas de flechas. El usuario puede moverse hasta la función deseada utilizando las teclas indicadas:



- La Prueba de integridad se realiza con una temperatura de $20^{\circ}\text{C} \pm 5$ con cartuchos mojados con agua.
- Para las carcasas Sartorius, la máxima pérdida de presión permitida es de 0,1 bar durante el tiempo del test de integridad.
- El test de integridad dura 10 minutos.

ANEXO N°28
INSTRUCTIVO - P008-03 ENSAYO DE ESTERILIDAD

ENSAYO DE ESTERILIDAD	INSTRUCTIVO N° P008-03
------------------------------	-----------------------------------

1 PASOS A SEGUIR:

1.1 Materiales y medios:

- Bandejas desinfectadas.
- Pinzas metálicas, tijeras, tenazas. (*)
- Unidad de filtración Sartorius. (*)(**)
- Membranas de filtración de nitrato de celulosa de 0,45 µm de poro y 47 mm de diámetro. (*)
- Base de filtración triple. (Manifold) (*)
- Jeringas x 20 mL y 5 mL con agujas 18 x 1 ½. (*)
- Paños Wetex. (*)
- Paños Yes.
- Plumón indeleble.
- Recipiente conectado al vacío x 5 litros.
- Frascos por 200 mL con Medio fluido Thioglicolato. (THIO)
- Frascos por 200 mL con Caldo Digerido de Caseína y Soja. (TSB)
- Agua Peptonada con Tween 80. (AP/T)
- Frascos por 100 mL con Medio fluido Thioglicolato a doble concentración. (THIO [])
- Frascos por 100 mL con Caldo Digerido de Caseína y Soja a doble concentración. (TSB [])

(*) Estériles.

(**) La unidad de filtración con la membrana filtrante deberá ser esterilizada en la autoclave teniendo en cuenta que la base de la unidad de filtración se encuentre ligeramente ajustada para evitar que la membrana se dañe por un cambio brusco de presión.

Áreas y Equipos:

- 1.2 El Ensayo de Esterilidad de los productos no Penicilínicos/Cefalosporínicos se realiza en el Área Estéril N° 1 en el equipo de Flujo Laminar; y el Ensayo de Esterilidad de los productos Penicilínicos/Cefalosporínicos se realiza en el Área Estéril N° 2 en la Cabina de Bioseguridad Telstar Bio II.
- 1.3 Para el ingreso al área estéril, el analista de Microbiología debe seguir las pautas de Ingreso y salida de las áreas estériles de la Sección de Microbiología.

- 1.4 El analista deberá verificar el estado del Flujo Laminar e instalaciones del área estéril, cada vez que ingresa a trabajar en él y en caso tenga alguna observación deberá comunicar inmediatamente al jefe de la Sección de Microbiología, para que éste a su vez coordine el mantenimiento respectivo.
- 1.5 Todo el material destinado para el Ensayo de Esterilidad ingresa al área estéril a través del túnel UV en el cual permanecerá por no menos de 30 minutos.
- 1.6 Todas las muestras para el Ensayo de Esterilidad deben ser desinfectadas previamente en su superficie, como se explica a continuación:

1.6.1 Ampollas y cámpulas:

- Lavar las ampollas o cámpulas con agua estéril y escurrirlas completamente.
- Desinfectar las ampollas o cámpulas sumergiéndolas en un envase con alcohol etílico al 70 % (aprox. 5 minutos) y escurrirlas completamente.
- Rotular, con un plumón indeleble, el envase con las ampollas o cámpulas con los siguientes datos: Nombre, lote y carga/fracción del producto.

1.6.2 Viales no penicilínicos/cefalosporínicos:

- Con una tijera limpia retirar la laminilla central del precinto de aluminio.
- Lavar los viales con agua estéril y escurrirlos completamente.
- Desinfectar los viales sumergiéndolos en un envase con alcohol etílico al 70 % (aprox. 5 minutos) y escurrirlos completamente.
- Rotular, con un plumón indeleble, el envase con viales con los siguientes datos: Nombre, lote y carga/fracción del producto.

1.6.3 Viales penicilínicos/cefalosporínicos:

- Lavar los viales con agua estéril y escurrirlos completamente.
- Desinfectar los viales sumergiéndolos en un envase con alcohol etílico al 70 % (aprox. 5 minutos) y escurrirlos completamente.
- Rotular, con un plumón indeleble, el envase con viales con los siguientes datos: Nombre y lote del producto.

1.6.4 Frascos y bolsas:

- Limpiar los frascos o bolsas con un paño limpio tipo Yes humedecido en agua desionizada.
- Desinfectar cada uno de los frascos o bolsas con un paño limpio tipo Yes humedecido en Alcohol etílico al 70 %.
- Colocar los frascos o bolsas en una bandeja metálica y rotularla con los siguientes datos: Nombre, lote y fracción/carga del producto.

1.6.5 Contenedores de muestras de materia prima y material de empaque:

- Desinfectar cada uno de los envases con un paño limpio tipo Yes humedecido en Alcohol etílico al 70 %.

1.7 Antes de iniciar el trabajo, sanitizar las superficies internas del Flujo Laminar o Cabina de Bioseguridad y mesas de trabajo.

CONTROL MICROBIOLÓGICO DE LAS INSTALACIONES PARA EL ENSAYO DE ESTERILIDAD:

1.8 En cada turno operativo, colocar en exposición placas con Agar Digerido de Caseína y Soya durante cuatro horas, incubarlas 48 horas de 30 °C a 35 °C para realizar el conteo de bacterias y luego 72 horas más de 20 °C a 25 °C para el conteo de hongos y levaduras.

1.9 Reportar.

MÉTODO DE FILTRACIÓN POR MEMBRANA:

En el área estéril de Microbiología:

1.10 Proceder a sacar las unidades de filtración Sartorius del empaque estéril (dos unidades) y ajustar las dos roscas de la base de polipropileno.

1.11 Retirar el tapón de la base del filtro y colocar las unidades de filtración (dos para cada ensayo: 01 para TSB y el otro para THIO) en la base Manifold triple. Rotular con plumón indeleble la unidad de filtración con el nombre del producto, lote, fracción/carga y la fecha de análisis, el mismo que se registra en el Formato interno de lectura de esterilidad con todos los datos de la muestra (nombre de producto, lote, fracción/carga, fecha de recepción, análisis y lectura).

1.12 Verificar la integridad de la membrana (deformidad, mala colocación o ruptura) agregando a cada unidad de filtración aproximadamente 100 mL de solución de enjuague (AP/T).

1.13 Abrir la válvula del sistema de vacío, luego la válvula de la base Manifold triple y observar el paso de la solución a través de la membrana. Si el paso es más rápido que lo habitual, la membrana podría encontrarse rota o mal colocada; si de lo contrario no existiera pase o éste es muy lento, la membrana podría estar deformada. En cualquiera de los dos casos la unidad de filtración debe ser retirada y reemplazada por otra.

1.14 Proceder a abrir los recipientes del producto según corresponda:

- Ampollas de vidrio: proceder a romper las ampollas por el anillo de ruptura.
- Ampollas de PEBD: girar el bulbo de la ampolla hasta quebrarlo.
- Cápsulas: utilizar una tijera estéril para retirar el precinto y el tapón.
- Viales Penicilínicos/Cefalosporínicos: utilizar una tenaza estéril para retirar el precinto y el tapón.

- Soluciones de Gran Volumen frascos: utilizar una tenaza estéril para retirar el precinto y el tapón.
- Soluciones de Gran Volumen frascos PEBD: utilizar una tijera estéril para realizar una abertura en la parte superior del lomo del frasco.
- Soluciones de Gran Volumen bolsas: utilizar una tijera estéril para cortar el ducto de la bolsa.
- Contenedores de muestras de materia prima (hidrosolubles): abrir el o los envases de prueba asépticamente evitando tocar la boca del envase y pasar la mano por encima del envase abierto.

1.15 Transferir asépticamente el volumen indicado en el Anexo 2 a las dos unidades de filtración en porciones iguales, de la siguiente manera:

- Ampollas de vidrio, ampollas de PEBD, cápsulas: Tomar la muestra directamente con una jeringa estéril desde cada uno de los envases.
- Viales no Penicilínicos / no Cefalosporínicos: Inyectar con una jeringa estéril AP/T a cada vial (volumen indicado por el fabricante), disolver el polvo y tomar la dilución formada.
- Viales Penicilínicos / Cefalosporínicos hidrosolubles: Inyectar con una jeringa estéril AP/T a cada vial (volumen indicado por el fabricante), disolver el polvo y tomar la dilución formada.
- Soluciones de Gran Volumen frascos, frascos PEBD y bolsas: Transferir la muestra por vertido directo.
- Muestras de materia prima hidrosoluble: Disolver la muestra (en la cantidad que se indica en el Anexo 2) en 100 mL de AP/T y tomar la dilución formada.

1.16 Luego abrir la válvula de la base Manifold triple para que la solución pase a través de las membranas.

1.17 Enjuagar cada membrana tres veces filtrando en cada enjuague 100 mL de AP/T; terminada la filtración cerrar la válvula de la base Manifold triple.

1.18 Retirar las unidades de filtración de la base Manifold triple, colocar inmediatamente el tapón en la base del filtro y ajustarlo bien para evitar filtraciones a través del orificio.

1.19 Transferir los medios THIO y TSB a su respectiva unidad de filtración y colocar inmediatamente las tapas.

1.20 Colocar las unidades de filtración en incubación durante 14 días a la temperatura que se indica para cada medio:

- Medio fluido Thioglicolato (THIO): 30 °C a 35 °C.
- Caldo Digerido de Caseína de Soya (TSB): 20 °C a 25 °C

1.21 Examinar los medios en incubación, todos los días, buscando evidencias macroscópicas del crecimiento microbiano, registrar las lecturas en el Formato interno de lectura de esterilidad.

- 1.22 Registrar los resultados del ensayo en el formato “Ensayo de Esterilidad-Endotoxinas Bacterianas”.

CONTROL NEGATIVO (método de filtración por membrana):

- 1.23 Se realiza siguiendo el mismo procedimiento que se aplica para una muestra, pero sin ella, esto nos permite verificar todas las condiciones durante el análisis, pero sin muestra.
- 1.24 Proceder a sacar las unidades de filtración Sartorius del empaque estéril (dos unidades) y ajustar las dos roscas de la base de polipropileno.
- 1.25 Retirar el tapón de la base del filtro de cada una de las unidades de filtración (02 unidades: 01 para TSB y la otra para THIO) y colocarlas en la base Manifold triple. Rotular con plumón indeleble cada unidad de filtración con la frase “Control negativo” y la fecha de análisis.
- 1.26 Verificar la integridad de la membrana como se indica en 1.12 y 1.13.
- 1.27 Enjuagar cada membrana tres veces, filtrando en cada enjuague 100 mL de AP/T, terminada la filtración cerrar la válvula de la base Manifold triple.
- 1.28 Seguir lo indicado en 1.18 al 1.22.

MÉTODO DE TRANSFERENCIA DIRECTA

En el área estéril de Microbiología:

- 1.29 Para el análisis de productos sólidos, que por su naturaleza no pueden ser filtrados, rotular con plumón indeleble dos frascos estériles conteniendo 100 mL de AP/T con el nombre del producto abreviado, lote, fracción/carga y la fecha de análisis, el mismo que se registra en el Formato interno de lectura de esterilidad con todos los datos de la muestra (nombre de producto, lote, fracción/carga, fecha de recepción, análisis y lectura).
- 1.30 Abrir los envases con una tenaza estéril, retirando completamente el precinto y el tapón.
- 1.31 Con una espátula estéril llevar 150 mg de cada unidad de muestra (de acuerdo al Anexo A) a cada frasco de prueba (con AP/T) y homogenizar manualmente.
- 1.32 Si la muestra es betalactámica, agregar 2 mL de penicilinasasa o cefalosporinasasa a cada frasco para inhibir la penicilina o cefalosporina presente.
- 1.33 Agregar a cada frasco de prueba, 100 mL del medio de cultivo que le corresponda THIO [] o TSB [].
- 1.34 Cerrar el frasco de prueba.
- 1.35 Colocar los frascos de prueba en incubación durante 14 días a la temperatura que se indica para cada medio:
 - Medio fluido Thioglicolato (THIO): 30 °C a 35 °C.
 - Caldo Digerido de Caseína de Soja (TSB): 20 °C a 25 °C
- 1.36 Para el caso de materia prima insoluble en agua, con una espátula estéril disolver, para cada medio de cultivo, no menos de la cantidad de muestra indicada en el Anexo B en 100 mL de AP/T y homogenizar manualmente. Seguir como se indica en 1.32 a 1.35.

- 1.37 Para material de empaque utilizar las unidades y la cantidad de medio de cultivo indicados en los anexos 1 y 2; luego introducir con una pinza estéril directamente las muestras a dos frascos con 200 mL de medio de cultivo THIO y TSB respectivamente. Seguir como se indica en 1.34 a 1.35.
- 1.38 Examinar los medios en incubación, todos los días, buscando evidencias macroscópicas del crecimiento microbiano, registrar las lecturas en el Formato Interno de Lectura de Esterilidad.
- 1.39 Registrar los resultados.

CONTROL NEGATIVO (método de transferencia directa):

- 1.40 Se realiza siguiendo el mismo procedimiento que se aplica para una muestra, pero sin ella, esto nos permite verificar todas las condiciones durante el análisis, pero sin muestra.
- 1.41 A dos frascos con 100 mL de AP/T agregarle medio de cultivo TSB [] y THIO [] respectivamente. Rotular cada frasco con la frase "Control negativo" y colocar la fecha de análisis.
- 1.42 Seguir lo indicado en 1.34 a 1.35.
- 1.43 Examinar los medios en incubación, todos los días, buscando evidencias macroscópicas del crecimiento microbiano, registrar las lecturas en el Formato interno de lectura de esterilidad.
- 1.44 Registrar los resultados.

CONTROL POSITIVO:

- 1.45 Para probar la capacidad del medio de promover los microorganismos existentes en la muestra evaluada, se utiliza *Aspergillus brasiliensis*, *Bacillus subtilis* y *Candida albicans* para el medio de cultivo TSB, y *Kocuria rhizophila*, *Bacillus subtilis* y *Clostridium sporogenes* para el medio de cultivo THIO.
- 1.46 En la Sala de Bioseguridad, se agrega no más de 100 UFC de cada uno del microorganismo en los medios de cultivo THIO y TSB respectivamente, y se incuban de 30 °C a 35 °C por no más de 3 días en el caso de Bacterias y de 20 °C a 25 °C por no más de 5 días en el caso de Hongos y Levaduras.
- 1.47 Se considerarán válidos los medios si se produce un crecimiento claramente visible de los microorganismos en ambos medios, registrar los resultados.
- 1.48 Una vez finalizado el trabajo limpiar y desinfectar el área.

INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

- 1.49 Si la muestra que se está evaluando enturbia el medio de modo que no puede determinarse fácilmente la presencia o ausencia de crecimiento microbiano mediante examen visual, 14 días después de iniciada la incubación, transferir 1 mL del medio de cultivo THIO (que contiene a la muestra analizada) a otro frasco con medio de cultivo

THIO estéril, luego incubar el recipiente original y el de transferencia por cuatro días. Proceder de la misma forma para el medio de cultivo TSB.

- 1.50 Si no se observa crecimiento microbiano, el producto o dispositivo cumple con los requisitos de la prueba de esterilidad. Sin embargo, si se observa crecimiento microbiano, entonces el producto o dispositivo examinado no cumple con la prueba de esterilidad, a menos que pueda demostrarse claramente que la prueba resultó inválida por causas no relacionadas con el producto examinado.
- 1.51 La prueba puede considerarse inválida si se cumplen una o más de las siguientes condiciones:
- a.) Datos del control microbiológico de las instalaciones para pruebas de esterilidad demuestran una falla.
 - b.) Una revisión del proceso analítico usado durante la prueba en cuestión revela una falla.
 - c.) Se halla crecimiento microbiano en los controles negativos.
 - d.) Si al determinar la identidad de los microorganismos aislados de la prueba, el crecimiento de esta especie (o especies) puede atribuirse de manera inequívoca a fallas con respecto al material o a la técnica usados al realizar la prueba de esterilidad.
- 1.52 Si la prueba se declara inválida, se repetirá con el mismo número de unidades de la prueba original. Si no se hallan pruebas de crecimiento microbiano en la prueba repetida, el producto examinado cumple con la prueba de esterilidad. Si se hallan pruebas de crecimiento microbiano, en la prueba repetida, el producto examinado no cumple con la prueba de esterilidad.
- 1.53 Registrar el resultado.

2 FRECUENCIA:

Cada vez que se requiera realizar el ensayo.

3 REFERENCIA:

USP VIGENTE <71> Prueba de esterilidad.

4 REGISTROS:

“Ensayo de Esterilidad - Endotoxinas Bacterianas”.

5. ANEXOS:

Anexo A: TABLA: Mínimo Número de artículos a evaluar en relación al número de artículos de partida.

Anexo B: TABLA: Cantidad mínima a usar para cada medio de cultivo.

ANEXO A
TABLA: MÍNIMO NÚMERO DE ARTÍCULOS A EVALUAR
EN RELACIÓN AL NÚMERO DE ARTÍCULOS EN LA PARTIDA

Número de Artículos en la partida	Número de Artículos a evaluar para cada medio
Preparaciones parenterales: No más de 100 envases. Más de 100 pero no más de 500 envases. Más de 500 envases. Para parenterales de gran volumen.	10% ó 4 envases, lo que resulte mayor. 10 envases. 2% ó 20 envases, lo que resulte menor. 2% ó 10 envases, lo que resulte menor.
Antibióticos sólidos: Envasados farmacéuticos a granel. (< 5g)	20 envases.
Dispositivos: No más de 100 artículos. Más de 100, pero no más de 500 artículos. Más de 500 artículos.	10% ó 4 artículos, lo que resulte mayor. 10 artículos. 2% ó 20 artículos, lo que resulte menor.
Productos sólidos a granel: Hasta 4 envases. Más de 4 envases, pero no más de 50 envases. Más de 50 envases.	Cada envase. 20% ó 4 envases, lo que resulte mayor. 2% ó 10 envases, lo que resulte mayor.

Referencia: USP Vigente <71> Prueba de esterilidad.

ANEXO B

TABLA: CANTIDAD MÍNIMA A USAR PARA CADA MEDIO DE CULTIVO

Cantidad por envase	Cantidad mínima a usar (a menos que se justifique y autorice algo diferente) *
Líquidos: Menos de 1mL. 1- 40 mL. Más de 40 mL y no más de 100mL. Más de 100 mL.	El contenido total de cada envase. La mitad del contenido de cada envase, pero no menos de 1mL. 20 mL. 10% del contenido del envase, pero no menos de 20mL.
Líquidos antibióticos:	1 mL
Sólidos: Menos de 50 mg. 50 mg o más, pero menos de 300 mg. 300 mg-5g. Más de 5g.	El contenido de cada envase. La mitad del contenido de cada envase, pero no menos de 50 mg 150 mg 500mg
Dispositivos: Apósito quirúrgico /algodón / gasa (en envase) Material de sutura y otro material desechable envasado individualmente. Otros dispositivos médicos	100 mg por envase El dispositivo completo El dispositivo completo, cortado en piezas o desmontado

* Si el contenido de un envase es suficiente para inocular dos medios, esta columna da el número de envases para los dos medios.

Referencia: USP Vigente <71> Prueba de esterilidad.

ANEXO N°31
INSTRUCTIVO - P002-02 PROMOCIÓN DE GÉRMENES EN MEDIOS DE CULTIVO

PROMOCIÓN DE GÉRMENES EN MEDIOS DE CULTIVO	INSTRUCTIVO N° P002-02
---	---------------------------------------

1. PASOS A SEGUIR

1.1 Preparar los siguientes materiales, cepas y medios de cultivo:

A. Materiales:

- ◆ Placas Petri descartables estériles.
- ◆ Asa de Khole.
- ◆ Mechero.
- ◆ Frascos de vidrio con tapa estériles de 250 mL.
- ◆ Alcohol etílico al 70 %.

B. Cepas de Microorganismos:

- ◆ *Kocuria rhizophila* ATCC 9341
- ◆ *Staphylococcus aureus* ATCC 6538
- ◆ *Candida albicans* ATCC 10231
- ◆ *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228
- ◆ *Escherichia coli* ATCC 8739
- ◆ *Salmonella typhimurium* ATCC 13311
- ◆ *Clostridium sporogenes* ATCC 11437
- ◆ *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 9027
- ◆ *Bacillus spizizenii* ATCC 6633
- ◆ *Aspergillus brasiliensis* ATCC 16404

C. Medios de Cultivo: Sólidos

- ◆ Agar Digerido de Caseína y Soja. (TSA)
- ◆ Agar Saboraud Dextrosa. (DSA)
- ◆ Agar N°1 para Antibióticos. (ATB N°1)
- ◆ Agar N°2 para Antibióticos. (ATB N°2)
- ◆ Agar Cetrimide. (CET)
- ◆ Agar Pseudomonas P. (PsP)
- ◆ Agar Pseudomonas F. (PsF)
- ◆ Agar Mac Conkey. (MCK)
- ◆ Agar Manitol Salado. (MS)
- ◆ Agar Xilosa –Lisina – Desoxicolato. (XLD)
- ◆ Agar Eosina Azul de Metileno. (EMB)

- ◆ Agar Plate Count (APC)

D. Medios de Cultivo: Líquidos

- ◆ Caldo de enriquecimiento de Enterobacterias según Mossel. (CEE-Mossel)
- ◆ Caldo Lactosado. (CL)
- ◆ Caldo Digerido de Caseína y Soja. (TSB)
- ◆ Caldo Saboraud Dextrosa. (DSB)
- ◆ Medio Tioglicolato. (THIO)
- ◆ Caldo Mac Conkey. (CMC)
- ◆ Caldo Rappaport-Vassiliadis. (CRV)

Medios de Cultivo

Son utilizados en la selección, aislamiento e identificación de los microorganismos.

Mediante la técnica de Promoción de Gérmenes, se puede demostrar la capacidad de promoción de crecimiento y las propiedades selectivas y diferenciales de los medios de cultivo.

1.2 Medios de Cultivos Sólidos:

- 1.2.1 Preparar y esterilizar el medio de cultivo a evaluar.
- 1.2.2 Con el asa de inoculación, colocar cuidadosamente una suspensión de microorganismos de prueba que contenga aproximadamente 100 UFC/mL, y estriar por agotamiento sobre la superficie del agar.
- 1.2.3 Dispensar una placa adicional como blanco.
- 1.2.4 Las condiciones de incubación son en general no más de 3 días para bacterias y no más de 5 días para hongos. Para los medios usados en la prueba de Límite microbiano y detección de patógenos incubar según las condiciones señaladas en el Anexo A.
- 1.2.5 La evaluación de los resultados se realizará de acuerdo al Anexo B. Interpretación:
 - 1.2.5.1 Si el medio de cultivo permite el crecimiento de los microorganismos de prueba y éstos además presentan las características morfológicas y fisiológicas esperadas, el lote de medio de cultivo se aprueba.
 - 1.2.5.2 Si el medio de prueba no presenta desarrollo, realizar el ensayo en placas testigo de un lote aprobado.
 - 1.2.5.3 Si el medio no presenta desarrollo y éste sí se manifiesta en las placas testigo, el medio de cultivo no puede utilizarse.
 - 1.2.5.4 Si el medio de cultivo permite el crecimiento de los microorganismos de prueba, pero estos no expresan las características morfológicas y fisiológicas esperadas, el medio de cultivo no debe usarse.

1.2.6 Registre los resultados obtenidos de la promoción hecha a cada lote de medio listo para usar y a cada lote de medio preparado.

1.3 Medios de Cultivo Líquido:

1.3.1 Preparar y esterilizar el medio de cultivo a evaluar.

1.3.2 Inocular porciones de medio de cultivo líquido con un número (no más de 100 UFC) de los microorganismos indicados en el Anexo C, empleando una porción para cada uno.

1.3.3 Realizar el mismo procedimiento para inocular microorganismos de control negativo.

1.3.4 Las condiciones de incubación son en general no más de 3 días para bacterias y no más de 5 días para hongos. Los medios usados en los Ensayos de Esterilidad, Límite microbiano y Detección de patógenos se deberán incubar.

1.3.5 La evaluación se interpretará de la siguiente manera:

1.3.5.1 Los medios líquidos son adecuados si se produce un crecimiento claramente visible de microorganismos comparable al obtenido anteriormente en una partida de medio analizada y aprobada previamente; entonces el o los lotes de medio de cultivo se aprueban para su uso.

1.3.5.2 Se considera satisfactorio, si la evidencia de crecimiento en un medio de cultivo para esterilidad aparece dentro de los 5 días del periodo de incubación.

1.3.5.3 Si no se presenta desarrollo en los medios líquidos, debe verificarse la viabilidad de los inóculos y repetir la prueba para su uso. Realizar un recuento en placa.

1.3.5.4 Si no se presenta desarrollo en los medios líquidos y la cuenta en placa es correcta, el lote de medio de cultivo debe rechazarse.

1.3.6 Registre los resultados obtenidos de la promoción de crecimiento hecha a cada lote de medio listo para usar y a cada lote de medio preparado.

2. **REFERENCIAS:**

USP vigente < 71> "Promoción de crecimiento: Ensayo de Esterilidad".

USP vigente < 61> "Promoción de crecimiento: Examen Microbiológico de Productos no Estériles".

3. **ANEXOS:**

Anexo A: Propiedades indicadoras de Promoción del Crecimiento e Inhibitorias de los medios.

Anexo B: Tabla de Promoción de Gérmenes en Medio de Cultivo Sólido.

Anexo C: Tabla de Promoción de Gérmenes en Medio de Cultivo Líquido.

ANEXO A

PROPIEDADES INDICADORAS DE PROMOCIÓN DEL CRECIMIENTO E INHIBITORIAS DE LOS MEDIOS

USO DEL MEDIO DE CULTIVO	MEDIO DE CULTIVO A ENSAYAR	MICROORGANISMO DE ENSAYO	T° INCUBACIÓN
ESTERILIDAD	Caldo Digerido de Caseína y Soya (TSB)	<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633 <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	30°C- 35°C (≤ 3 días) 20°C-25°C (≤ 5 días)
	Medio fluido de Tioglicolato (THIO)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 ó <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 <i>Clostridium sporogenes</i> ATCC 11437	30°C-35°C (≤ 3 días.)
LIMITE MICROBIANO	Caldo Digerido de Caseína y Soya (TSB)	<i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633 ó <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 ó <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 ó <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 ó <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 ó <i>Aspergillus brasiliensis</i> ATCC 16404	30°C-35°C (≤ 3 días) 20°C-25°C (≤ 5 días)
	Caldo Lactosado (CL)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	30°C-35°C (≤ 3 días)
	Caldo MacConkey (CMC)	(Prom +) <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (Inhibit.) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	42°C-44°C (18 - 24 horas)
	Caldo Rappaport Vassiliadis (CRV)	(Prom +) <i>Salmonella typhimurium</i> ATCC14028 (Inhibit.) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	30°C-35°C (24-48 horas)
	Caldo Saboraud Dextrosa (DSB)	(Prom +) <i>Candida albicans</i> ATCC10231	30°C-35°C (3-5 días)
	Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 <i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633 <i>Candida albicans</i> ATCC 10231 <i>Aspergillus níger</i> ATCC 16404	30°C-35°C ≤ 3 días. 20°C-25°C ≤ 5 días.
	Agar Dextrosa Sabouraud (DSA)	(Prom. + Indicadora) <i>Candida albicans</i> ATCC 10231	20°C-25°C ≤ 5 días
	Agar Cetrimide (GET)	(Prom +) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027 (Inhibit.) <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	30°C-35°C ≤ 3 días.
	Agar Plate Count (APC)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538	30°C-35°C ≤ 3 días.
	Agar Manitol Salado (MS)	(Prom. + Indicadora) <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (Inhibit.) <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	30°C-35°C ≤ 3 días.
	Agar Mac Conkey (MC)	(Prom indicadora) <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	30°C-35°C ≤ 3 días

	Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)	<i>(Prom. + Indicadora) Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028 <i>(Indicadora) Escherichia coli</i> ATCC 8739	30°C-35°C ≤ 3 dias.
	Agar Pseudomonas P (PsP)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	30°C-35°C ≤ 3 dias.
	Agar Pseudomonas F (PsF)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027	30°C-35°C ≤ 3 dias.
	Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	<i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	30°C-35°C ≤ 3 dias.
TRAZAS DE Beta lactámicos	Agar Antibiótico N°1	<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC 9341 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228 <i>Bacillus spizizenii</i> ATCC 6633	30°C-35°C ≤ 3 dias.
	Agar Antibiótico N°2	<i>Kocuria rhizophila</i> ATCC 9341 <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	30°C-35°C ≤ 3 dias.

ANEXO B

TABLA DE PROMOCIÓN DE GÉRMENES Y CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS EN MEDIO DE CULTIVO SÓLIDO

MEDIO DE CULTIVO	MICROORGANISMO CONTROL POSITIVO	CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS
Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i> <i>Bacillus spizizenii</i>	Colonias medianas amarillas-doradas. Pigmentación verde azulada. Colonias medianas blancas. Colonias aterciopeladas blancas Colonias grandes de borde irregular blancas.
Agar Sabouraud Glucosa 4% (SGA)	<i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i>	Colonias grandes y mucosas. Colonias aterciopeladas blancas.
Agar No. 1 para Antibióticos	<i>Kocuria rhizophila</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Bacillus spizizenii</i>	Colonias medianas amarillas. Colonias pequeñas amarillas. Colonias medianas cremas. Colonias medianas cremas.
Agar No. 2 para Antibióticos	<i>Kocuria rhizophila</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Colonias medianas amarillas. Colonias pequeñas amarillas. Colonias medianas cremas.
Agar Cetrimide	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Colonias con pigmento verde azulado y fluorescentes a la luz UV.
Agar Mac Conkey	<i>Escherichia coli</i>	Colonias grandes, rosadas hasta rojas, con precipitado opaco.
Agar Manitol Salado	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	Crecimiento abundante de colonias con halo amarillo brillante Pobre crecimiento, el medio no cambia de color.
Agar Xilosa-Lisina-Desoxicolato (XLD)	<i>Escherichia coli</i> <i>Salmonella typhimurium</i>	Colonias amarillas, opacas con precipitado amarillo. Colonias rojas, transparentes, con bordes amarillos y centro negro.
Agar Eosina Azul de Metileno (EMB)	<i>Escherichia coli</i>	Colonias 2-3 mm, centro negro, brillo metálico verde.
Agar Pseudomonas P	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Buen crecimiento, presencia de pigmentación azul-verdosa.
Agar Pseudomonas F	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Buen crecimiento, presencia de pigmentación amarillo-verdosa y fluorescencia.

* FUENTE: Manual de Microbiología Merck KGaA

ANEXO C

TABLA DE PROMOCIÓN DE GERMENES Y CARACTERÍSTICAS DE LAS COLONIAS EN MEDIO DE CULTIVO LÍQUIDO

Medio de Cultivo	Microorganismo Control Positivo	Características de Colonias
Caldo de enriquecimiento de Enterobacterias según Mossel (CMOSS)	<i>Escherichia coli</i>	Buen crecimiento.
Caldo Lactosado (CL)	<i>Escherichia coli</i>	Buen crecimiento. Producción de gas y turbidez en Campanas Durham.
Caldo Digerido de Caseína y Soya (TSB)	<i>Bacillus spizizenii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Candida albicans</i> <i>Aspergillus brasiliensis</i> <i>Pseudomona aeruginosa</i> <i>Staphylococcus aureus</i>	Buen crecimiento.
Medio Tioglicolato (THIO)	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Clostridium sporogenes</i>	Buen crecimiento.
Caldo MacConkey (CMC)	<i>Escherichia coli</i>	Buen crecimiento, cambio de coloración a amarillo
Caldo Rappaport Vassiliadis (CRV)	<i>Salmonella typhimurium</i>	Abundante crecimiento en 24 horas.
Caldo Saboraud Dextrosa (DSB)	<i>Candida albicans</i>	Buen crecimiento

*FUENTE: Manual de Microbiología Merck KGaA

ANEXO N° 30
INSTRUCTIVO - A003-02 DETERMINACIÓN DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS EN AGUA OSMOTIZADA Y CONDENSADO DE VAPOR POR EL MÉTODO GEL CLOT

DETERMINACIÓN DE ENDOTOXINAS BACTERIANAS EN AGUA OSMOTIZADA Y CONDENSADO DE VAPOR POR EL MÉTODO GEL CLOT

INSTRUCTIVO N°
A003-02

2 PASOS A SEGUIR:

2.1 Materiales y Reactivos.

- Pipetas apirogenas de 1 mL, 2 mL y 5 mL;
- Tubos apirógenos de 10 x 75 mm de vidrio "flint"(cal sódica).
- Tips de 0,2 µ L, Combitips de 5 mL.
- Micropipeta repetidora y micropipeta fija de 10 µL y 100 µL.
- Agitador Vortex.
- Baño María sin recirculación a 37°C.
- Gradilla, Parafilm M.
- Agua apirógena (Agua LRW para LAL).
- Pyrotell 0,03 EU/mL.
- Control Estándar de Endotoxina (CSE).

2.2 El agua osmotizada y el condensado de vapor deberán muestrearse.

2.3 Proceder a realizar el ensayo en el área de Microbiología bajo flujo laminar.

2.4 La reconstitución del Pyrotell y la preparación del CSE a la concentración requerida deberá realizarse Ensayo de endotoxinas bacterianas: método Gel-Clot

2.5 Colocar los tubos en la gradilla según esquema:

Columna \ Filas	1	2	3	4	5	6	7
A	x		x				
B	x						
C	x						
D	x						
E							
F	x		x				

2.6 Preparar las diluciones de trabajo.

2.6.1 Añadir 100 µL de la muestra original al tubo situado en posición 1 A y luego añadir 100 µL de agua (LRW) con la ayuda de una micropipeta repetidora a los tubos situados en 1B, 1C y 1D.

2.6.2 Con una micropipeta, añadir 100 µL de muestra al tubo colocado en posición 1B, homogenizar en el vortex y retirar 100 µL de esta dilución (1:2).

- 2.6.3 Añadir los 100 µL de la dilución (1:2) al tubo colocado en la posición 1C, homogenizar en el vortex y retirar 100 µL de esta dilución (1:4).
- 2.6.4 Colocar los 100 µL de la dilución 1:4 en el tubo situado en 1D, homogeneizar en el vortex y retirar 100 µL de la dilución (1:8).
- 2.6.5 Colocar los 100 µL de la dilución (1:8) en el tubo situado en 1F.
- 2.7 Si hubieran más muestras de agua, colocarlas en la gradilla, enumerarlas y realizar el mismo procedimiento del punto 1.6.
- 2.8 El tubo 3A es el control negativo del agua LRW y el 3F el control positivo del agua LRW.
- 2.9 Preparar los controles positivos:
- Añadir 10 µL del CSE de concentración 0,6 UE/mL a los tubos en la fila F, con micropipeta fija de 10 µL y mezclar.
- 2.10 Ensayo:
- 2.10.1 Con ayuda de una micropipeta repetidora, colocar 100 µL del Pyrotell 0,03 UE/mL en los tubos, comenzando con el control negativo del agua LRW (3A), luego las diluciones de mayor a menor concentración y finalmente los controles positivos.
- 2.10.2 Golpear la gradilla vigorosamente para provocar la mezcla en los tubos y colocarla en Baño María a 37 °C ± 1 °C por 60 minutos.
- 2.11 Lectura.
- 2.11.1 La lectura se hará comenzando por el control negativo, luego las diluciones, y finalmente los controles positivos.
- 2.11.2 Se invertirá cada tubo y se evaluará la consistencia del gel, de la siguiente manera:
- (+) Formación de un gel consistente, no se rompe al invertirlo.
 - (-) No se forma gel, puede ser un líquido límpido.
 - (-*) No se forma gel, líquido con formación de grumos.
- 2.12 Informe y registro de resultados:
- 2.12.1 Inmediatamente registrar resultados e informar, vía telefónica, al área de producción de la que proviene la muestra para dar inicio a la fabricación.
- 2.12.2 Los resultados obtenidos se reportarán.
- 2.13 Criterio de Aceptación:

AGUA OSMOTIZADA:

- 2.13.1 Si el resultado es no conforme se reanaliza una nueva muestra; si en este nuevo muestreo persiste el resultado elevado (>0,12 EU USP/mL) se comunica inmediatamente al área de Producción y al área de Mantenimiento para que no use el punto o puntos no conformes, para que elimine el agua que

haya podido ser recolectada en los reactores y/o tanques y si lo amerita se detenga la fabricación. Luego se programa la sanitización de los equipos, tuberías u otras piezas que estuviesen involucradas.

2.13.2 Terminada la sanitización muestrear el agua obtenida del equipo de ósmosis para realizar el ensayo de endotoxinas, y dar pase a la fabricación sólo cuando el ensayo cumpla con la especificación correspondiente.

2.13.3 De persistir los resultados no conformes, se coordinará con Dirección Técnica, Producción y Mantenimiento las acciones a tomar.

CONDENSADO DE VAPOR:

2.13.4 Registrar y reportar los resultados.

2.13.5 Comunicar los resultados telefónicamente o por correo electrónico a la Jefatura de Control de Calidad, Mantenimiento y Producción.

2.13.6 Si el resultado fuera No Conforme repetir el análisis, si volviera a dar positivo, coordinar una sanitización del sistema CIP (Clean in Place) con Mantenimiento y realizar nuevamente el análisis.

3 REFERENCIAS:

- USP Vigente <85> "Test de Endotoxinas Bacterianas"

ANEXO N° 31
INSTRUCTIVO - P021-05 MONITOREO DE PARTÍCULAS VIABLES EN LAS ÁREAS DE PRODUCCIÓN ESTÉRILES

MONITOREO DE PARTÍCULAS VIABLES EN LAS ÁREAS DE PRODUCCIÓN ESTÉRILES	INSTRUCTIVO N° P021-05
---	-------------------------------

1. PASOS A SEGUIR:

Se realizan los siguientes monitoreos:

1. Control Ambiental:
 - 1.1. Exposición de placas.
 - 1.2. Muestreo volumétrico del aire.
2. Control Microbiológico de Superficies (Equipos e Instalaciones):
 - 2.1. Impresión en placa Rodac o
 - 2.2. Hisopado
3. Control Microbiológico de Uniformes (Personal):
 - 3.1. Impresión en placa Rodac o
 - 3.2. Hisopado

1.1 CONTROL AMBIENTAL:

1.1.1 MÉTODO DE EXPOSICIÓN DE PLACAS:

1.1.1.1 Materiales y medios de cultivo:

- Placas petri de 90mm de diámetro con Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) estériles.
- Bandejas plásticas con tapa.
- Formatos de Control Ambiental.

1.1.1.2 Preparación de materiales:

En el área de Microbiología:

- Preparar bajo Flujo Laminar una bandeja (desinfectada con Alcohol etílico al 70%) con la cantidad de placas con TSA necesarias de acuerdo al plano del área en la que serán expuestas (colocar una placa extra como blanco).
- Rotular las placas con TSA con un plumón marcador indicando el número del punto en el que será expuesto.
- Se deben marcar en los planos de las áreas estériles.
- Adjuntar el formato a la bandeja cerrada y protegerla con doble bolsa plástica, sellarla con cinta Masking tape y rotular con el nombre del área y la fecha de exposición de las placas.
- El área de Microbiología, previa coordinación telefónica, enviará al personal encargado del área la(s) bandeja(s) correctamente

identificada(s), en horas de la tarde del día anterior a la exposición de placas o a primeras horas del mismo día.

- El personal de producción encargado deberá trasladar la(s) bandeja(s) con mucho cuidado hacia el túnel esterilizante correspondiente al área donde se van a exponer las placas.
- Retirar la envoltura plástica y el formato adjunto, pasar por toda la superficie de la bandeja un paño limpio antipelusa embebido con Alcohol etílico al 70%.
- Colocar la bandeja en el túnel, donde permanecerá bajo irradiación ultravioleta por toda la noche o en caso contrario por 30 minutos.

1.1.1.3 Exposición de placas:

En el área a monitorear:

- El personal encargado del monitoreo, debe ingresar a las áreas de producción que van a ser controlados con la indumentaria adecuada (overol, gorro, escaupines y guantes estériles), siguiendo los pasos que se señalan en el instructivo de ingreso al área.
- Por el lado estéril, abrir el túnel y colocar la bandeja en una mesa dentro de la sala. Antes de coger las placas, desinfectarse los guantes con Alcohol etílico al 70%.
- Las placas conteniendo TSA son expuestas en varios puntos del área, para monitorear los organismos viables que caen dentro del agar.
- Retirar las placas de la bandeja y colocarlas en cada punto (ubicaciones indicadas en el plano del área a controlar) de la siguiente manera: retirar la tapa de la placa cuidadosamente, colocando ésta a un costado de la base, sin invertirla.
- Dejar la placa en exposición por 4 horas.
- Concluido el tiempo de exposición, tapar las placas, evitando pasar la mano sobre la placa abierta. Recoger las placas, colocarlas en su respectiva bandeja.
- Trasladar la bandeja al túnel esterilizante.
- Retirar la bandeja de la trampa, protegiéndola con doble bolsa, y adjuntar el Formato de plaqueo, con los siguientes datos: área estéril a la que pertenece, fecha en que se realizó la limpieza, el nombre y número de lote del producto que se está procesando en el momento de la exposición de las placas, el nombre y número de lote del producto anterior, fecha y hora de la exposición de placas y la identificación del personal que realizó el monitoreo.
- Finalmente trasladar la bandeja con las placas expuestas a la esclusa de planta, coordinando con Microbiología para el recojo de las mismas.

1.1.1.4 Incubación y lectura:

- En el área de Microbiología: se incuban las placas en forma invertida por 48 horas de 30 °C a 35 °C, cumplido dicho período, realizar el conteo de Bacterias, inmediatamente volver a incubar las placas de 20 °C a 25 °C por tres días más y realizar el conteo de Hongos y Levaduras
- Registrar los resultados.

1.1.1.5 Interpretación de resultados:

- Si los resultados de las áreas superan las especificaciones establecidas, el responsable de microbiología comunicará telefónicamente éstos resultados al responsable del área de producción para que tome acciones correctivas a fin de prevenir y/o minimizar su recurrencia.
- Se procede a hacer una segunda exposición de placas, previa coordinación con el responsable del área, para una nueva limpieza y desinfección.
- Se esperará los resultados de la siguiente exposición. De persistir los resultados no conformes, se elevara el informe a Dirección Técnica, Aseguramiento de la Calidad y al Jefe de área para determinar las acciones a tomar, mientras tanto el área queda en observación al igual que los productos envasados en esas fechas.

1.1.2 MUESTREO VOLUMÉTRICO DE AIRE

1.1.2.1 Materiales y medio de cultivo:

- Placas petri de 90mm de diámetro con Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) estériles.
- Bandejas plásticas con tapa, desinfectadas.

1.1.2.2 Equipos:

- Colector Microbiológico de gérmenes aéreos Mas 100.
- Colector Microbiológico de gérmenes aéreos Mas 100NT.

1.1.2.2 Locaciones a monitorear:

En las áreas estériles: dentro y fuera del flujo laminar.

1.1.2.3 Preparación de materiales:

En el área de Microbiología:

- Preparar una bandeja (desinfectada con Alcohol etílico al 70 %) para transportar, el equipo, las dos piezas de la tapa perforada y las placas, al área estéril a ser evaluada.

- El número de placas depende del número de puntos a muestrear, en cada área se debe tomar muestra dentro de cada flujo laminar y en sus exteriores.
- Proteger la bandeja con doble bolsa y colocarla en la trampa del área estéril a monitorear.

1.1.2.4 Preparación del Equipo:

- Verificar la carga de la batería.
- Esterilizar las piezas de la tapa perforada del equipo.

1.1.2.5 Muestreo:

En el área a monitorear:

- El personal de Microbiología o Producción capacitado encargado del monitoreo, debe ingresar a las áreas de producción que va a ser controlada con la indumentaria adecuada (overol, gorro, escarpines y guantes estériles), siguiendo los pasos que se señalan en el instructivo de ingreso al área.
- El muestreo volumétrico es realizado para medir la cantidad de microorganismos viables suspendidos, normalmente no detectables en la exposición de placas.
- **Manejo del Mas 100:**
Colocar la placa con TSA sobre el soporte para placa Petri del equipo, retire la tapa de la placa y coloque la tapa perforada estéril, retire la tapa protectora (guardapolvo) y presione YES → NO → NO → NO → YES. La luz verde indica el funcionamiento del equipo. La luz roja indica que ha finalizado el ciclo de muestreo volumétrico. Retirar cuidadosamente la placa con TSA del equipo, tapar y rotular con la descripción del punto muestreado, área, fecha, hora y nombre del operador. Luego coleccionar las placas y enviarlas, junto con el equipo, al área de Microbiología para su incubación.
- **Manejo del Mas 100NT:**
Colocar la placa con TSA sobre el soporte para placa Petri del equipo, retire la tapa de la placa y coloque la tapa perforada estéril, retire la tapa protectora (guardapolvo), y presione (pulsación larga el botón izquierdo) se encenderá el foco de luz azul, luego START (botón izquierdo), luego START (botón derecho). La luz azul se hará intermitente mientras se realiza el muestreo, y se quedará estática cuando finalice el ciclo de muestreo volumétrico. La luz roja indica que el ciclo ha sido interrumpido y se activará una alarma sonora.

Retirar cuidadosamente la placa con TSA del equipo, tapar y rotular con la descripción del punto muestreado, área, fecha, hora y nombre del operador. Apagar el equipo pulsando MENU (botón derecho), luego SELECT (botón derecho) y OK (botón derecho). Luego coleccionar las placas y enviarlas, junto con el equipo, al área de Microbiología para su incubación.

1.1.2.6 Incubación y lectura:

- En el área de Microbiología: se incuban las placas en forma invertida por 48 horas de 30 °C a 35 °C, cumplido dicho período, realizar el conteo de Bacterias, inmediatamente volver a incubar las placas de 20 °C a 25 °C por tres días más y realizar el conteo de Hongos y Levaduras
- Registrar los resultados.

1.1.2.7 Interpretación de resultados:

- Para interpretar los resultados usar la tabla de Feller, de acuerdo con la tapa perforada (tapa de impacción) usada. Ver Anexos I y II.
- Se consideran los siguientes límites:
 - Grado A : <1 UFC/m³.
 - Grado B : ≤ 10 UFC/m³.
 - Grado C : ≤ 100 UFC/m³.
- Si los resultados de las áreas superan las especificaciones establecidas, el responsable de microbiología comunicará telefónicamente estos resultados al responsable del área de producción para que tome acciones correctivas a fin de prevenir y/o minimizar su recurrencia.
- Se procede a hacer un segundo muestreo volumétrico del aire, previa coordinación con el responsable del área, para una nueva limpieza y desinfección.
- Se esperará los resultados del siguiente muestreo. De persistir los resultados no conformes, se elevará el informe a Dirección Técnica, Aseguramiento de la Calidad y al Jefe de área para determinar las acciones a tomar, mientras tanto el área queda en observación al igual que los productos envasados en esas fechas.

1.2 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE SUPERFICIES (EQUIPOS E INSTALACIONES):

1.2.1 IMPRESIÓN EN PLACAS RODAC:

1.2.1.1 Materiales y medio de cultivo:

- Placas estériles Rodac-Plate (25 cm²) con Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) estériles.
- Bandejas plásticas con tapa, desinfectadas.

1.2.1.2 Preparación de materiales:

En el área de Microbiología:

- Preparar bajo Flujo Laminar una bandeja (desinfectada con Alcohol etílico al 70%) con la cantidad de placas Rodac con TSA necesarias de acuerdo al número de puntos a controlar (según el área a monitorear).
- Cubrir la bandeja con doble bolsa plástica, selladas con cinta Masking tape, y trasladarlas al área a ser evaluada.
- Colocar la bandeja en el túnel esterilizante correspondiente al área estéril a controlar, retirar la envoltura plástica y pasar por toda la superficie un paño limpio antipelusa embebido con Alcohol etílico al 70%, cerrar la puerta del túnel.

1.2.1.3 Impresión en las Placas Rodac:

En el área a monitorear:

- El personal de Microbiología, debe ingresar a las áreas de producción que van a ser controlados con la indumentaria adecuada (overol, gorro, escarpines y guantes estériles), siguiendo los pasos que se señalan en el instructivo de ingreso al área.
- Por el lado estéril, abrir el túnel y colocar la bandeja en una mesa dentro de la sala. Antes de coger las placas desinfectarse los guantes con Alcohol etílico al 70%.
- Abrir la placa cuidadosamente con las dos manos, tomar la base y efectuar la impresión (5 segundos) con la parte de agar expuesto sobre el punto elegido.
- Como prevención de contaminación, desinfecte cada punto muestreado con un paño estéril antipelusa humedecido con Alcohol etílico al 70%.
- Rotular cada placa con el nombre del punto muestreado.
- Colectar las placas, colocarlas en la bandeja y trasladarlas al área de Microbiología para su incubación.

1.2.1.4 Incubación y lectura:

- En el área de Microbiología: se incuban las placas por 48 horas de 30 °C a 35 °C, cumplido dicho período, realizar el conteo de Bacterias, inmediatamente volver a incubar las placas de 20 °C a 25 °C por tres días más y realizar el conteo de Hongos y Levaduras
- Registrar los resultados.

1.2.1.5 Interpretación de resultados:

- Si los resultados de las áreas superan las especificaciones establecidas, el responsable de microbiología comunicará telefónicamente éstos resultados al responsable del área de producción para que tome acciones correctivas a fin de prevenir y/o minimizar su recurrencia.
- Se procede a hacer una segunda impresión de placas Rodac sobre los mismos puntos controlados, previa coordinación con el responsable del área, para una nueva limpieza y desinfección.
- Se esperará los resultados de la siguiente impresión. De persistir los resultados no conformes, se elevará el informe a Dirección Técnica, Aseguramiento de la Calidad y al Jefe de área para determinar las acciones a tomar.

1.2.2 HISOPADO:

1.2.2.1 Materiales y medios:

- Hisopos con mango de madera estériles.
- Tubos con 5 mL de Solución fisiológica estéril.
- Placas Petri estériles descartables o de vidrio estériles.
- Canastilla o taper para transportar el material.
- Asa de Khole.
- Pipetas de 1 mL estériles.
- Pizeta con Alcohol etílico al 70 %.
- Agar Digerido de Caseína y Soja (TSA).
- Tubos con 9mL de Caldo Digerido de Caseína y Soja (TSB).

1.2.2.2 Preparación de materiales:

En el área de Microbiología:

- Preparar los materiales adecuadamente protegidos de la contaminación.
- Desinfectar con Alcohol etílico al 70%, la canastilla o bandeja empleada para transportar el material, incluir mascarilla, guantes y plumón marcador.
- Forrar la canastilla o bandeja con doble bolsa.
- Trasladar la bandeja con los materiales, a la trampa del área donde se encuentran los equipos e instalaciones a evaluar.

1.2.2.3 Toma de muestra (hisopado):

En el área a monitorear:

- El analista de Microbiología debe ingresar a las áreas estériles de producción que van a ser controlados, con la indumentaria adecuada

(overol, gorro, escarpines y guantes estériles), siguiendo los pasos que se señalan en el instructivo de ingreso al área.

- Tomar un hisopo estéril y humectarlo con Solución fisiológica estéril del tubo correspondiente al punto de control, frotar con el hisopo humedecido un área aproximada de 25 cm² (5 cm x 5 cm) de la superficie. Hacer un desplazamiento paralelo, luego perpendicular y diagonal sobre el área determinada.
- Terminado este proceso, introducir el hisopo en el tubo con Solución fisiológica respectivo, quebrando el extremo del hisopo que ha sido manipulado durante el muestreo y eliminarlo. Tapar inmediatamente el tubo.
- Rotular cada tubo con el punto de muestreo (parte de la instalación o equipo hisopado) y el área donde se tomó la muestra.
- Transportar las muestras y los materiales empleados al área de Microbiología, para el análisis correspondiente.

1.2.2.4 Análisis, incubación y lectura:

EN LA SALA DE RECuento DEL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA:

- Realizar el análisis bajo Flujo Laminar de la siguiente manera: agitar vigorosamente el tubo con Solución fisiológica (muestra) y colocar 1 mL en dos placas Petri (1 mL en cada una), añadir 20mL de agar (TSA) fundido (45 a 50 °C aprox.). Luego de homogenizarlas y gelificar el agar, se incuban en forma invertida de 30 °C a 35 °C por 48 horas para el conteo de Bacterias y luego de 20 °C a 25°C por 72 horas para el conteo de Hongos y Levaduras. Cada placa debe estar rotulada indicando el punto muestreado y la fecha del análisis.
- Terminado el proceso de incubación, realizar el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC).
- Determinar la presencia de microorganismos patógenos de la siguiente manera: colocar 1mL de la solución fisiológica en un tubo con 9 mL de Caldo Digerido de Caseína y Soya, incubar por 48 h de 30 °C a 35 °C. Luego del período de incubación: si el caldo permanece transparente, el ensayo finaliza.
- Si el caldo se enturbia, proceder con la investigación de patógenos.

EN LA SALA DE BIOSEGURIDAD DEL ÁREA DE MICROBIOLOGÍA:

- Para detección de E. coli: Añadir 1 mL de TSB (enturbiado) a 100mL de Caldo Mac Conkey, incubar de 42°C a 44°C por 24 a 48 horas, si luego del período de incubación, el caldo se enturbia, realizar un estriado por agotamiento con asa de Khole sobre una placa con Agar

Mac Conkey e incubar de 30 °C a 35 °C por 18 a 72 h. Si no se desarrollan colonias rojas, grandes con precipitados, o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias (Coloración Gram y EMB) son negativos se reporta "ausente".

- Para detección de Salmonella spp: Añadir 0.1mL de TSB (enturbado) a 10mL de Caldo de Enriquecimiento para Salmonella Rappaport Vassiliadis (CRV), incubar de 30 °C a 35 °C por 18 a 24 horas, si luego del período de incubación el caldo se enturbia, realizar un estriado por agotamiento con asa de Khole sobre una placa con Agar Xilosa Lisina Desoxicolato, incubar de 30 °C a 35 °C por 18 a 24 horas. Si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias (Coloración Gram, TSI) son negativos se reporta "ausente".
- Para detección de Pseudomonas aeruginosa: a partir del TSB (enturbado) estriar por agotamiento con asa de Khole sobre una placa de Agar Cetrimide, incubar de 30 °C a 35 °C por 18 a 72 horas. Si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias (Coloración Gram, Test de Oxidasa, Fluorescencia UV en Agar pseudomonas P y F) son negativos se reporta "ausente".
- Para detección de Staphylococcus aureus: a partir de TSB (enturbado) estriar por agotamiento con asa de Khole sobre una placa de Agar Manitol Salado, incubar de 30 °C a 35 °C por 18 a 72 horas. Si no se desarrollan colonias o si los resultados de las pruebas de identificación confirmatorias (Coloración Gram, Test de Coagulasa) son negativos se reporta "ausente".

• Registrar los resultados.

1.2.2.5 Interpretación de resultados:

- Si el resultado es conforme a las especificaciones, finaliza la prueba.
- Si el resultado es NO CONFORME, el responsable de Microbiología comunicará telefónicamente estos resultados al responsable del área en la que se realizó el monitoreo para que tome las acciones correctivas. Y se coordina la repetición de la prueba sobre los mismos puntos de muestreo.
- Se esperará los resultados de la repetición. De persistir los resultados no conformes, se elevará el informe a Dirección Técnica, Aseguramiento de la Calidad y Jefe de área para determinar las acciones a tomar.

1.3 CONTROL MICROBIOLÓGICO DE UNIFORMES (PERSONAL):

1.3.1 IMPRESIÓN POR PLACAS DE CONTACTO:

1.3.1.1 Materiales y medio:

- Placas estériles Rodac-Plate (25 cm²) con Agar Digerido de Caseína y Soya (TSA) estériles.
- Bandejas plásticas con tapa, desinfectadas.

1.3.1.2 Preparación de materiales:

En el área de Microbiología:

- Preparar bajo Flujo Laminar una bandeja (desinfectada con Alcohol etílico al 70%) con la cantidad de placas Rodac con TSA necesarias de acuerdo al número de personas a monitorear (13 puntos por persona: frente, boca, pecho, mano derecha, mano izquierda, puño derecho, puño izquierdo, antebrazo derecho, antebrazo izquierdo, pierna derecha, pierna izquierda, escaquin derecho, escaquin izquierdo).
- Cubrir la bandeja con doble bolsa plástica, selladas con cinta Masking tape, y trasladarlas al área a ser evaluada.
- Colocar la bandeja en el túnel esterilizante correspondiente al área estéril a controlar, retirar la envoltura plástica y pasar por toda la superficie un paño limpio antipelusa embebido con Alcohol etílico al 70%, cerrar la puerta del túnel.

1.3.1.3 Impresión en las placas con placas de contacto:

En el área a monitorear:

- El personal de Microbiología, debe ingresar a las áreas de producción que van a ser controlados con la indumentaria adecuada (mameluco, gorro, escaquines y guantes estériles), siguiendo los pasos que se señalan en el instructivo de ingreso al área.
- Por el lado estéril, abrir el túnel y colocar la bandeja en una mesa dentro de la sala. Antes de coger las placas desinfectarse los guantes con Alcohol etílico al 70%.
- Abrir la placa cuidadosamente con las dos manos, tomar la base y efectuar la impresión (5 segundos) con la parte de agar expuesto sobre el punto del uniforme a monitorear.
- Rotular cada placa con el nombre de la persona monitoreada y el punto correspondiente.
- Colectar las placas, colocarlas en la bandeja y trasladarlas al área de Microbiología para su incubación.

1.3.1.4 Incubación y lectura:

- En el área de Microbiología: se incuban las placas por 48 horas de 30 °C a 35 °C, cumplido dicho período, realizar el conteo de Bacterias, inmediatamente volver a incubar las placas de 20 °C a 25 °C por tres días más y realizar el conteo de Hongos y Levaduras
- Registrar los resultados.

1.3.1.5 Interpretación de resultados:

- Si los resultados superan las especificaciones establecidas (≤ 3 UFC/25cm²). El responsable de microbiología comunicará telefónicamente estos resultados al responsable del área de producción para que tome las acciones correctivas a fin de prevenir y/o minimizar su recurrencia.
- Se procede a hacer una segunda impresión sobre los mismos puntos controlados del personal con resultados no conformes, previa coordinación con el responsable del área.
- Se esperará los resultados del siguiente análisis. De persistir los resultados no conformes, se elevará el informe a Dirección Técnica, Aseguramiento de la Calidad y al Jefe de área para determinar las acciones a tomar.

ANEXO N° 32
CONSOLIDADO DE UNIDADES ENVASADAS (TIEMPO Y TEMPERATURA
DE INCUBACIÓN)

Tiempo de incubación 14 días prueba 1,2 y 3 de las ampollas envasadas.

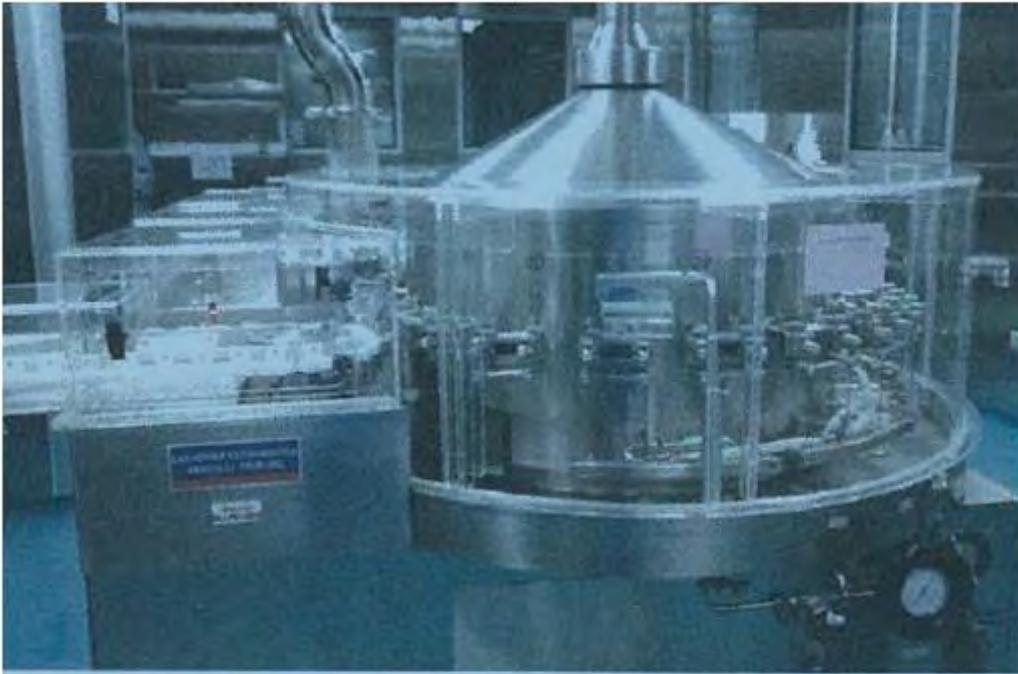
Día	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
Temperatura de incubación	20 °C – 25 °C							30°C – 35 °C						

Tiempo de incubación y temperatura de incubación de las ampollas envasadas.

Día de incubación	Prueba 1		Prueba 2		Prueba 3	
	T° 9 a.m.	T° 6 p.m.	T° 9 a.m.	T° 6 p.m.	T° 9 a.m.	T° 6 p.m.
1	-	22.3	-	21.8	-	23.6
2	22.4	21.6	21.3	21.6	24.1	21.6
3	21.2	20.5	22.6	21.5	20.2	21.4
4	22.1	22.0	23.1	23.4	22.4	22.8
5	23.3	21.0	22.0	21.5	22.5	21.3
6	21.5	21.6	20.8	21.0	22.2	23.0
7	22.5	21.9	21.9	22.3	21.3	22.0
8	33.2	33.5	33.2	32.4	32.7	33.7
9	33.0	33.0	32.5	33.1	32.4	32.9
10	32.9	33.5	32.6	33.4	33.9	33.4
11	32.7	33.2	33.0	32.9	33.1	33.3
12	33.1	32.9	32.8	33.1	33.0	32.8
13	33.4	33.6	32.7	33.0	32.4	33.7
14	33.0	33.5	33.7	33.3	33.5	32.7

Fuente: Elaboración propia.

ANEXO N° 33
IMÁGENES FOTOGRÁFICAS



Túnel de despirogenado de ampollas



Lavadora ultrasónica vertical para ampollas



Envasadora TruKing,
ubicado en la sala de
envasado



La envasadora TruKing en
proceso de llenado y
sellado de ampollas.

ANEXO N° 34

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN

VALIDACION DE LLENADO ASÉPTICO

**LINEA DE ENVASE AMPOLLAS ESTERILES
PEQUEÑO VOLUMEN**

PT-001

Revisión: 00

**VALIDACIÓN DE LLENADO ASEPTICO
LINEA DE ENVASE AMPOLLAS ESTERILES**

**Codigo: PT-001
Revisión: 00**

ELABORADO POR

JEFE DE VALIDACION DE PROCESOS

REVISADO POR

JEFE DE LINEA DE ENVASES DE AMPOLLAS

APROBADO POR

**GERENTE DE ASEGURAMIENTO DE LA
CALIDAD**

TABLA DE CONTENIDOS

- I. OBJETIVOS**
- II. ALCANCE**
- III. UBICACIÓN**
- IV. RESPONSABILIDADES**
- V. CONDICIONES PREVIAS**
- VI. DESCRIPCION DE LAS CONDICIONES DEL PEOR CASO**
- VII. PROCEDIMIENTO**
- VIII. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN**

I. OBJETIVOS

- ✓ Validar las operaciones asépticas de envase (llenado y sellado), mediante la prueba de Simulación de Procesos en la línea de envase de soluciones estériles en ampollas en la planta de producción.
- ✓ Calificar al personal que participa en el procesamiento aseptico
- ✓ Verificar el cumplimiento de la Buenas Practicas de Manufactura para productos estériles.

II. ALCANCE

Este protocolo avala los procesos asépticos realizados en la línea de envase de la planta y que se procedio en el siguiente equipo.

EQUIPO	CODIGO
Envasadora y selladora de ampollas Truking	PL-PV1-E015

III. UBICACIÓN

La línea de envase de envase de soluciones estériles de la planta de producción de pequeño volumen, esta ubicada en el segundo piso del edificio N° 2 de planta 1 del laboratorio.

IV. RESPONSABILIDAD

VALIDACIÓN DE PROCESOS

Diseño del proceso de validación

Coordinar con las áreas involucradas para el desarrollo de la validación

Reunir y revisar la documentación generada del proceso de validación (registros , resultados)

Evaluar los resultados con la corridas realizadas.

Investigar cualquier desviación que se encuentre en los resultados.

Proponer cualquier cambio en coordinación con las distintas jefaturas.

Elabora el protocolo y reporte de validación.

CALIBRACIÓN Y CALIFICACIÓN

Garantizar que los equipos que intervienen en el proceso est{en debidamente calificado y con programa estructurado de evaluación y mantenimiento preventivo de los equipos.

Garantizar que las áreas en las cuales se va realizar el proceso se encuentren calificadas.

Garantizar que los instrumentos utilizados se encuentren calibrados

Garantizar que los procesos de esterilización en túnel y autoclave se encuentren validados.

CONTROL DE CALIDAD – MICROBIOLOGÍA

Garantizar los materiales para la ejecución del monitoreo ambiental durante la prueba.

Aislamiento e identificación preliminar de los microorganismos que requieran ser identificados.

Realizar la prueba de promoción de crecimiento a los medios de cultivo utilizados en la prueba.

Realializar el regsitro y control de los resultados de monitoreo ambiental y ensayo de esterilidad dde ampollas.

Realizar el control de la temperatura de la cámara de incubación y anotar los resultados en el registro correspondiente.

Revisión de las unidades llenadas a los 14 días del periodo de incubación.

PRODUCCIÓN

Proporcionar la información necesaria en cuanto al proceso de manufactura para el buen desarrollo de la validación.

Garantizar que la evaluación se efectue dentro de las condiciones normales de trabajo.

Garantizar que no haya ocurrido ningún cambio sustancial dentro del proceso a validar.

Revisión de las unidades llenadas a los 14 días del periodo de incubación.

Revisar el protocolo y reporte de validación.

MANTENIMIENTO

Garantizar que las instalaciones y equipos mantengan las condiciones de funcionamiento adecuadas.

Contar con un programa de mantenimiento preventivo de los equipos que intervienen en el llenado aséptico y verificar su cumplimiento.

ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD

Revisar y aprobar el protocolo y reporte de validación.

DIRECCIÓN TÉCNICA

Brindar información técnica necesaria para el desarrollo de la validación.

Revisar y aprobar el protocolo y reporte de validación.

V. CONDICIONES PREVIAS

Antes de ejecutar la validación de llenado aséptico se debe verificar el estado de calificación y/o vigencia de los siguientes elementos:

- a) Sistema de Agua
 - Agua para inyección
- b) Áreas
 - Fabricación
 - Filtración
 - Envase
 - Recepción de ampollas
 - Lavado de ampollas
- c) Equipos
 - Flujo laminar (Filtración)
 - Autoclave
 - Lavadora ultrasónica vertical
 - Túnel de Despirogenado
 - Envasadora y selladora de ampollas
 - Flujo laminar (Recepción ampollas)
 - Flujo laminar (Envasadora)
 - Flujo laminar (Ingreso envasadora)
 - Flujo laminar (Producto)
 - Equipo Inspector de ampollas
 - Sartochek para integridad de filtro
 - Estufa de 20° C – 25° C y estufa de 30° C – 35° C
 - Tanque Presurizador x 50 L
 - Tanque de 50L

- ✓ Agua para inyección
- ✓ Contar con salas calificadas: La sala de fabricación debe ser grado C, la sala de filtración grado A en B, la sala de envasado grado A en B, y la sala de lavado de ampollas grado B. Los parámetros de trabajo de salas son: Presión positiva, temperatura 20°C-25°C y humedad no mayor a 60%.
- ✓ Contar con los sistemas de apoyos críticos (sistema de tratamiento de agua validado, calefacción, ventilación y aire acondicionado (HVAC) calificado, sistema de vapor calificado.
- ✓ Contar con equipos/ instrumentos calificados.
- ✓ Realizar la limpieza de ambientes, equipos y materiales según los procedimientos vigentes.

VI. DESCRIPCION DE LAS CONDICIONES DEL PEOR CASO

Complejidad de las operaciones

La línea de envase de la planta del laboratorio está destinada fundamentalmente al envase de productos tipo solución en ampollas, por lo que este estudio de validación de llenado aséptico debe simular las etapas de envase de ampollas (llenado y sellado).

Tamaño del lote

El número de unidades a llenar con medio de cultivo durante los estudios de validación deben ser suficientes para que la evaluación de la prueba sea válida teniendo en cuenta el tamaño máximo de lote.

El tamaño máximo para procesar es de aproximadamente 82 000 ampollas, el cual se consideran lotes de mediana escala. Según el reporte 45 de OMS, la cantidad a procesar debe ser mayor a 10000 unidades, por ello se decidió establecer una cifra de 11000 ampollas como la cantidad a procesar.

Velocidad de la máquina envasadora

De acuerdo con el tamaño de lote y la velocidad a emplear para el producto se decidió lo siguiente: se conoce que la velocidad teórica de envase a emplear es aproximadamente 9600 ampollas/hora, teniendo un lote de 82 000 ampollas, por tanto, el envasado se desarrollaría en 8.5 horas. En el estudio se utilizó la misma velocidad para procesar las 11000 ampollas con paradas a intervalos de tiempos para un tiempo total de 8.5 horas. La intervención simulada se realiza como sigue:

Considerando el ingreso de personal de mantenimiento, se realizó una intervención, como se muestra en la Tabla N° 7, simulando problemas en el ajuste de posición de agujas de dosificación, de la siguiente forma:

- Detenga la alimentación de ampollas.
- Retire todas las ampollas existentes en la guía de alimentación al dosificador.
- Simule ajustar la zona de dosificación.
- Si ocurren intervenciones reales en el proceso que están contempladas dentro de las planificadas no será necesario repetir las mismas, realizando las paradas e intervenciones programadas según la siguiente secuencia de acuerdo con la Tabla N°7.

**TABLA N° 7
SECUENCIA DE LLENADO**

Etapa	Mo	P	I	P	I	P	M	P	M	P	F	P	F	Total
Tiempo (minutos)	30	60	15	60	20	115	15	60	15	60	15	60	15	540
Intervención programada	---	---	---	---	1°	---	---	---	---	---	---	---	---	1

Donde: Mo=Montaje / I = Inicio / M = Medio / F = Final / P = Parada programada

Fuente: Elaboración propia

Tiempo de duración de la operación

De acuerdo con la capacidad de la máquina y a la cantidad de ampollas a llenar se estableció en los puntos anteriores los siguientes tiempos:

Montaje: 0.5 horas.

Envase y sellado: 8.5 horas.

Tiempo total de operación: 9 horas.

Volumen de medio de cultivo a envasar

En el laboratorio, para el área de inyectables se utilizan varios volúmenes de presentación de ampollas (2mL y 5mL). Para establecer el peor caso en cuanto al volumen de solución a envasar, se tuvo en cuenta lo siguiente:

La presentación de ampollas de 2mL, debido a su pequeño tamaño, son los que provocan mayor dificultad en su abastecimiento a la línea de envase. Adicionalmente la presentación de 2mL representa la mayoría de las presentaciones que se utilizan en la línea de envasado para los productos, por ello se determinó que en este estudio de validación se utilizará la presentación de 2mL como peor caso. Además, a esto, cuando se utilicen las presentaciones de mayor volumen los tamaños de lotes suelen durar menos tiempo.

Para el caso de la validación del llenado aséptico el volumen de solución de medio de cultivo a dispensar no aparece en las regulaciones como un parámetro crítico desde el punto de vista aséptico, pero es importante considerar una cantidad mínima para facilitar la lectura de las posibles unidades contaminadas.

Para este estudio de validación en el que se utilizó ampollas de capacidad de 3 mL, se estableció dispensar un volumen de 2 mL de solución de medio de cultivo. Por lo tanto, se preparó una cantidad de solución de medio de cultivo suficiente para llenar el total de unidades planificadas.

Número de personas que participa en el proceso

Según las BPM, debe estar presente un número mínimo del personal para realizar las actividades operacionales asépticas, asimismo el movimiento del personal debe realizarse en forma controlada y metódica para evitar la liberación excesiva de partículas y microorganismos.

El número de personal que participa en el proceso de llenado aséptico se determinó 3 personas de acuerdo con la complejidad de la operación y

fatiga del personal. Asimismo, el personal debe estar debidamente capacitado y calificado en las operaciones del área estéril, quienes fueron dispuestos de la siguiente forma:

- ✓ Dos personas dentro de la sala de envase, una encargada del manejo de la envasadora, la segunda encargada de apoyar en las actividades de descarga de ampollas.
- ✓ La tercera persona estará principalmente en la sala de recepción de ampollas y puede ingresar a la sala de envase cubriendo cualquier necesidad que se pueda presentar en el proceso general.
- ✓ Adicionalmente se considera dentro del proceso el ingreso de personal de mantenimiento quien realizará una simulación de intervención ante cualquier desperfecto en la operación del equipo.

Ensamblajes, conexiones y desconexiones asépticas en el comienzo y durante el llenado

La máquina envasadora automática de la línea de envase de ampollas cuenta con sistemas de dosificación tipo pistón, por lo que deben realizarse las siguientes operaciones asépticas:

- ✓ Se colocó los émbolos estériles a la envasadora.
- ✓ Se colocó las agujas estériles a la envasadora.
- ✓ Se conectó los valones de producto con émbolos de la envasadora.

VII. PROCEDIMIENTO

Ver 3.4 Procedimiento de la tesis .

VIII. CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Las condiciones para la invalidar la prueba se darán siempre en cuando que los resultados de la prueba de validación del llenado aséptico estén fuera de los criterios de aceptación y se presente los siguientes casos que se debe verificar:

Se verificó si existe fallos en las condiciones físicas del envase, esto representan un alto riesgo para el aseguramiento de la esterilidad del producto.

Se verificó si existe incumplimiento por parte de los operadores de seguir conforme a los procedimientos de operaciones de preparación de materiales y envase.

Se verifico si existe incumplimiento de los parámetros planificados para el peor caso que afecten la calidad de los resultados del estudio realizado.

ANEXO N°35

REPORTE DE VALIDACIÓN

VALIDACION DE LLENADO ASÉPTICO

LINEA DE ENVASE AMPOLLAS ESTERILES

RV-001

TABLA DE CONTENIDOS

- I. DOCUMENTACIÓN**
- II. INTRODUCCIÓN**
- III. RESULTADOS**
- IV. OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS**
- V. DESVIACIONES**
- VI. CONCLUSIONES**

I. DOCUMENTACIÓN

El seguimiento del estado de validación del proceso de llenado aséptico en ampollas de vidrio en la envasadora Truking de la línea de envase, ha sido desarrollado empleando el siguiente protocolo de validación:

N° DE PROTOCOLO	APROBACIÓN
PT-001 Revisión 00	2019-05-19

II. INTRODUCCIÓN

Esta evaluación corresponde al seguimiento del estado de validación del procesamiento aséptico realizado en la envasadora Truking de la Línea de envase la cual se realizó mediante una prueba de simulación de procesos.

Esta prueba se ejecutó empleando solución de Caldo Digerido de Caseína y Soya (Medio de crecimiento de microorganismos) y utilizando como materiales de envase primario ampollas incoloras. La condición del peor caso evaluado en esta prueba está descrita en el protocolo correspondiente.

Durante la operación de llenado se realizaron las intervenciones rutinarias como el de la dosificación, alimentación de ampollas. En la corrida de ampollas que salían mal selladas fueron eliminadas.

La prueba de promoción de crecimiento se realizó a una muestra de solución de medio de cultivo de las ampollas envasadas en esa prueba al final de su incubación.

El monitoreo Ambiental del aire y superficie se efectuó en condiciones de operación. El monitoreo de uniformes del personal se efectuó al final del proceso.

Las ampollas llenadas se incubaron durante 14 días a dos temperaturas: 7 días de $22.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$ y 7 días de $32.5 \pm 2.5^{\circ}\text{C}$. Fueron examinados (revisados) para detectar cualquier contaminación al 14^{to} día.

Se comprobó la esterilidad de las ampollas utilizados mediante una muestra tomada al inicio de la operación de llenado. Estos fueron sumergidos en Caldo Digerido de Caseína y Soja e incubados por 14 días para comprobar sus esterilidad.

III. RESULTADOS

A continuación se muestran los resultados fundamentales obtenidos durante la prueba, para mayor detalle de los resultados ver el Capítulo IV de Resultados, análisis y discusión de la tesis.

Tabla N° 1: Resultados del control de Bioburden del medio de cultivo

Producto: Caldo digerido de caseína y soya			
Especificaciones: Filtración Estéril: Max .50 UFC /40ml (Aerobios + hongos y filamentos levaduras)			
Pruebas	Recuento Total		Resultado
	Recuento total de Microorganismos Aerobios:	Recuento total combinado de hongos filamentosos y levaduras:	
1° Prueba	2 UFC /40ml	< 1 UFC /40ml	Conforme
2° Prueba	4 UFC /40ml	< 1 UFC /40ml	Conforme
3° Prueba	2 UFC /40ml	< 1 UFC /40ml	Conforme

En la Tabla N° 1 se observa los resultados de Bioburden antes de la filtración esterilizante del medio de cultivo en las tres pruebas se encuentran dentro de las especificaciones máx. 50 UFC /40mL del medio de cultivo. En la BPM indica que la carga microbiológica de los materiales de partida debe ser mínima.

Tabla N° 2: Resultados de la prueba de integridad de filtro de esterilización por el método de punto de burbuja

Producto: Caldo digerido de caseína y soya			
Parámetros de test:			
Clase de test:		Estándar	
Punto de burbuja min.		3450 mbar	
Punto de burbuja máx.		4500 mbar	
Escala presión del equipo.		50 mbar	
Volumen neto:		Auto	
RESULTADOS			
Prueba	Punto de burbuja (mbar)	Volumen neto: (mL)	Evaluación:
1° (filtro 1)	4027	189	Test Aprobado
2° (filtro 2)	4052	195	Test Aprobado
3° (filtro 3)	4092	192	Test Aprobado

o se puede observar en la Tabla N°2 las tres pruebas de integridad de filtro (0.22 µm) correspondiente a cada filtración esterilizante está dentro de los parámetros de la prueba de integridad de filtro de 3200 mbar a 4500 mbar por el método de punto de burbuja, según lo definido por el fabricante Sartorius los parámetros, estaba prueba asegura que el filtrado obtenido es estéril.

Tabla N° 9: Resultados de la esterilidad medio de cultivo

Prueba	Lote de medio de cultivo preparado	Resultado
1°	VAL -181105A	Estéril
2°	VAL – 181106B	Estéril
3°	VAL – 181107C	Estéril

En la Tabla N°9, se aprecia que en las muestras (producto envasado) después de finalizar la fabricación y la filtración no hubo crecimiento y no se detectaron formas viables de microorganismos (bacterias, hongos y levaduras) en el medio de cultivo, por tanto, no se encuentran como contaminantes y el medio de cultivo es estéril, esto demuestra que estas operaciones se realizaron satisfactoriamente de acuerdo con las Buenas Prácticas de Manufactura para productos estériles.

Tabla N° 3: Resultado de la prueba de promoción de crecimiento del medio de cultivo

PRUEBA	LOTE Medio de cultivo (TSB)	<i>B. subtilis</i> 6633	<i>C. albicans</i> 10231	<i>A. brasiliensis</i> 16404	<i>P. aeruginosa</i> 9027	<i>S. aureus</i> 6538	Resultado
1°	VAL – 181105A	+	+	+	+	+	Conforme
2°	VAL – 181106B	+	+	+	+	+	Conforme
3°	VAL – 181107C	+	+	+	+	+	Conforme

De acuerdo con la Tabla N°3, se asegura de que la solución de medio de cultivo caldo digerido de caseína y soja irradiado (TSB) de las tres corridas promueve satisfactoriamente el crecimiento de los microorganismos de prueba.

Tabla N° 4: Resultados de la esterilidad de ampollas

Especiación de esterilidad acuerdo a la USP <71>: Estéril	
Resultados	
Prueba	Control de la esterilidad de ampollas
1°	Estéril
2°	Estéril
3°	Estéril

Como se puede apreciar en la Tabla N°4 los resultados de las tres corridas aseguran que las operaciones de lavado y esterilización de ampollas se encuentran bajo control.

Tabla N° 5: Prueba de control de endotoxinas bacterianas de las ampollas

		CRITERIOS DE ACEPTACIÓN:									
		Luego de incubar a 37°C ± 1°C durante 60 ± 2 minutos (+) Presenta gel firme al invertir 180° (-) No presenta gel firme al invertir 180 USP <85> Prueba de endotoxinas Bacteriana (Método Gel Clot) No más de: 0.25 UE usp/mL									
Prueba	LOTE	Prueba de sensibilidad del Pyrotell (Sensibilidad medida del lisado: > 0.5 λ y < 2 λ)						Ensayo de la muestra			Resultado
1°Prueba	VAL-181105A	Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	Conforme
		1	+	+	-	-	-	1	-	+	
		2	+	+	-	-	-	2	-	+	
2°Prueba	VAL-181106B	Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	Conforme
		1	+	+	-	-	-	1	-	+	
		2	+	+	-	-	-	2	-	+	
3°Prueba	VAL-181107C	Tubo N°	2 λ	λ	0.5 λ	0.25 λ	BLANCO	Tubo N°	M	C (+)	Conforme
		1	+	+	-	-	-	1	-	+	
		2	+	+	-	-	-	2	-	+	

Como se puede apreciar en la Tabla N°5 los resultados de endotoxinas bacterianas de las muestras de ampollas vacías, esterilizadas por calor seco utilizadas en el proceso de llenado aséptico resultaron las ampollas conformes. Con estos resultados se asegura que las ampollas vacías son apirógenas.

TABLA N° 6: Resultados de control microbiológico ambiental de salas limpias de fabricación método exposición de placas con agar TSA

ESPECIFICACIONES	
Límites de acción	Límites de alerta
Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado C: Máx. 30 UFC/placa
Grado D: Máx. 100 UFC/placa	Grado D: Máx. 50 UFC/placa

	Producto trabajado: Caldo Digerido de caseína y soya irradiado			
	Método: Exposición de placas con agar TSA			
	Tiempo de exposición: 1 hora			
RESULTADOS				
GRADO	UBICACIÓN	Prueba 1 UFC/placa	Prueba 2 UFC/placa	Prueba 3 UFC/placa
C	Sala de fabricación	1	1	1
	Sala de fabricación	1	5	8
D	Esclusa de personal sala de fabricación	23	1	2
	Esclusa de materia prima sala de fabricación	2	4	1
	Lavadero sala de fabricación	1	3	4
RESULTADOS:		Conforme	<input checked="" type="checkbox"/>	No
conforme			<input type="checkbox"/>	

En la Tabla N°6, el control microbiológico ambiental por el método de exposición de placas se encuentra por debajo de los límites de alerta los cuales son especificaciones más estrictas, grado C: máximo 30 UFC/placa, las 2 zonas de muestreo sala de fabricación como resultado obtuvieron conforme en las tres pruebas. Grado D: máximo 50 UFC/placa, zona de muestreo exclusiva de personal para el ingreso a la sala de fabricación como resultado se obtuvo conforme en las tres pruebas, exclusiva de materia prima como resultado se obtuvo son conformes.

Tabla N° 7: Resultados de control microbiológico ambiental de salas limpias de lavado de ampollas método exposición de placas con agar TSA

ESPECIFICACIONES	
Límites de acción	Límites de alerta
Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado C: Máx. 30 UFC/placa
Grado D: Máx. 100 UFC/placa	Grado D: Máx. 50 UFC/placa

Pruebas	Etapa de proceso	Viable en el aire (UFC/ placa por puntos de muestreo)				
		1	2	3	4	5
1° Prueba	1 era parte	<1	<1	<1	15	10
	2da parte	<1	<1	<1	12	10
2° Prueba	1era parte	<1	5	10	10	7
	2da parte	<1	4	9	11	8

3° Prueba	1era parte	<1	5	10	10	7
	2da parte	<1	3	9	12	6

GRADO	Puntos de muestreo
C	Ingreso de ampollas/viales(1)
	Sala de lavado ampollas/viales(2)
	Sala de lavado ampollas/viales entre las esclusas (3)
D	Esclusa de personal sala de lavado ampollas/viales (4)
	Esclusa de materiales sala de lavado ampollas/viales (5)

Los resultados de la Tabla N° 7 cumple con de acuerdos a los lineamientos de BPM, el control microbiológico ambiental por el método de exposición de placas se encuentra por debajo de los límites de alerta de acuerdo con la USP <1116> Control Microbiológico y Monitoreo de Ambientes de Procesamiento Aséptico los cuales son especificaciones más estrictas, grado C: máximo 30 UFC/placa, las obtuvieron conforme en las tres pruebas. Grado D: máximo 50 UFC/placa, se obtuvo resultados conforme en las tres pruebas.

Tabla N° 8: Resultado de control microbiológico ambiental de la sala de envase - método exposición de placas con agar TSA

ESPECIFICACIONES		
SALA	LÍMITES DE ACCIÓN	LÍMITES DE ALERTA
Sala en operación	Grado A: <1 UFC/placa Grado B: Máx. 5 UFC/placa Grado C: Máx. 50 UFC/placa	Grado B: Máx. 3 UFC/placa Grado C: Máx. 25 UFC/placa
Sala en reposo	Grado A: <1 UFC/placa Grado B: Máx. 3 UFC/placa Grado C: Máx. 25 UFC/placa	-

Prueba	Etapa de Proceso	Viabiles en el aire por puntos de muestreo											
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
1° Prueba	Reposo	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Operación 1° parte	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Operación 2° parte	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1
2° Prueba	Reposo	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Operación 1° parte	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Operación 2° parte	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1	<1
3° Prueba	Reposo	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Operación 1° parte	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1
	Operación 2° parte	<1	<1	<1	<1	<1	<1	<1	1	1	<1	<1	<1

- GRADO Punto de muestreo
- A Dentro del flujo laminar de envase (1)
Cerca de la zona de llenado (2)
Ingreso de ampollas vacías (3)
Dentro del flujo laminar de recepción de ampollas (4)
Dentro del flujo laminar de filtración (5)
- B Fuera del flujo laminar de envase (6)
Fuera del flujo laminar de filtración (7)
Cerca de la puerta de descarga de la autoclave (8)
Pasadizo N° 1 (9)
Pre-área N° 3 (10)
- C Pre-área N°2 (11)
Pre-área N° 1 (12)

De acuerdo con los resultados de la Tabla N° 8 el control microbiológico ambiental de la sala de envasado aséptico por el método de exposición de placas se encuentra dentro de los límites establecidos en la zona crítica de grado A <1 UFC/placa en reposo y en operación. En el grado B los puntos de muestreo se encuentran dentro de los límites en operación máxima 5 UFC/placa y los puntos de muestreo en reposo se encuentran dentro de los límites máximo 3 UFC/placa. En el grado C los puntos de muestreo se encuentran dentro de los límites en operación máximo 50 UFC/placa y los puntos de muestreo en reposo se encuentran dentro de los límites máximo 25 UFC/placa.

Tabla N° 9: Resultado del tamaño de lote en la validación

	Tamaño de lote en la validación		
	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Tamaño de lote teórico	11000	11000	11000
Tamaño de lote real	11755	11494	11273

De acuerdo con la Tabla N° 9: El tamaño de lote en la validación: El número de unidades a llenar con medio de cultivo durante la validación son 11000 unidades teniendo, y teniendo en cuenta el reporte 45 de OMS, donde indica la cantidad a procesar debe ser mayor a 10000 unidades, por ello se establecieron una cifra de 11000 ampollas como la cantidad a procesar.

TABLA N° 10: RESULTADO DE LA VELOCIDAD DE LA MAQUINA

Velocidad de la máquina			
Velocidad	Prueba 1	Prueba 2	Prueba 3
Velocidad de la maquina teórica	9600 ampollas /hora	9600 ampollas /hora	9600 ampollas /hora
Velocidad práctica de la maquina	9550 ampollas /hora	9550 ampollas /hora	9550 ampollas /hora

De acuerdo con la Tabla N°10, del resultado de la velocidad de la máquina de acuerdo con el tamaño de lote y la velocidad a emplear para el producto, se conoce que la velocidad teórica de envase a emplear es aproximadamente 9600 ampollas/hora, teniendo un lote máximo de 82 000 ampollas entonces el envase se desarrollaría en 8.5 horas. Por ello en el estudio se utilizó la misma velocidad para procesar las 11000 ampollas con paradas a intervalos de tiempos para un tiempo total de 8.5 horas. Los siguientes tiempos son: Montaje: 0.5 horas, envase y sellado: 8.5 horas haciendo un total de 9 horas. La velocidad práctica 9550 ampollas/hora en las tres pruebas.

Tabla N° 11: Resultado del volumen de medio de cultivo

VOLUMEN ENVASADO PRIMERA PRUEBA	VOLUMEN ENVASADO SEGUNDA PRUEBA	VOLUMEN ENVASADO TERCERA PRUEBA
Rango de volumen neto: 1.90 mL- 2.10 mL	Rango de volumen neto: 1.90 mL- 2.10 mL	Rango de volumen neto: 1.90 mL- 2.10 mL
Densidad: 0.985423	Densidad: 0.9734	Densidad: 0.9934
INICIO: PROMEDIO: 2.043010971	INICIO: PROMEDIO: 2.016626362	INICIO: PROMEDIO: 2.053158897
MEDIO: PROMEDIO: 2.053432891	MEDIO: PROMEDIO: 2.063580818	MEDIO: PROMEDIO: 2.073728744
FINAL: PROMEDIO: 2.049576679	FINAL: PROMEDIO: 2.059724606	FINAL: PROMEDIO: 2.069872532
<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> Capacidad corto plazo Cp 1.28 CPL 1.90 CPU 0.66 Cpk 0.66 </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> Capacidad corto plazo Cp 1.15 CPL 1.69 CPU 0.62 Cpk 0.62 </div>	<div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: auto;"> Capacidad corto plazo Cp 1.24 CPL 2.05 CPU 0.43 Cpk 0.43 </div>

En la Tabla N° 11, referido a informes de capacidad de proceso de la primera prueba, volumen de envasado de medio de cultivo el valor de Cp es mayor a 1, por lo que se infiere que el proceso es capaz de cumplir especificaciones y es reproducible. Se observa los volúmenes promedios de medio de cultivo durante el envasado se encuentran dentro de los parámetros establecidos internamente volumen neto 1.90 mL a 2.10 mL. El volumen promedio es 2.0510.

Tabla N° 12: Resultado del tiempo total de operación

Prueba	Lote de medio de cultivo	Fabricación		Envase		Total de horas de envase
Prueba 1	VAL-181105A	Fecha 05-11-2018		Fecha 06-11-2018		9 h
		Hora de inicio	Hora final	Hora de inicio	Hora final	
		09:00 h	10:40 h	9:00 h	6:00 h	
Prueba 2	VAL-181106B	Fecha 06-11-2018		Fecha 07-11-2018		9 h
		Hora de inicio	Hora final	Hora de inicio	Hora final	
		8:30 h	10:10 h	9:15 h	18:15 h	
Prueba 3	VAL-181107C	Fecha 07-11-2018		Fecha 08-11-2018		9 h
		Hora de inicio	Hora final	Hora de inicio	Hora final	
		09:20 h	11:00	8:45 h	17:45 h	

De acuerdo con la Tabla N° 12 se observa que de acuerdo con la capacidad de la maquina 9600/hora y la cantidad de ampollas a llenar un lote de 82 000 ampollas es un tiempo de 8.5. Durante el llenado aséptico se debe cubrir todo el total de tiempo 8.5 horas realizando paradas cubriendo todo el tiempo de envasado. Montaje de la envasadora es 0.5 horas,

envase y sellado 8.5 horas tiempo total de operación 9 horas. El proceso de envase se realizó en línea continua con los procesos de lavado y despirogenación de ampollas. El proceso de envase se realizó con las paradas programadas para alcanzar el tiempo de proceso establecido.

Tabla N° 13: Resultado del número de personas que participa en el proceso

Simulación/ Funciones	Personal que participa en el proceso			
	Envasador	Apoyo de descarga de ampollas envasadas, dentro de la sala de envase	Apoyo en el trasladar ampollas, fuera de la sala de envase	Mantenimiento
Prueba 1	Operador 1	Operador 2	Operador 3	Mantenimiento
Prueba 2	Operador 1	Operador 2	Operador 3	Mantenimiento
Prueba 3	Operador 1	Reemplazo	Operador 3	Mantenimiento

De acuerdo con la Tabla N° 13 se observa que en total participan 3 personas en el proceso de llenado aséptico en las 3 pruebas, personal debidamente capacitadas en operaciones en área estéril y un personal de mantenimiento.

En la sala de envase, operador 1 encargado del manejo de la envasadora y operador 2 encargados de apoyar en las actividades de descarga de ampollas envasadas en bolsas de polietileno.

El operador 3 ubicado en la sala de recepción de ampollas (sala fuera de envase) y puede ingresar a la sala de envase cubriendo cualquier necesidad que se pueda presentar en el proceso general. Adicionalmente se considera dentro del proceso el ingreso de personal de Mantenimiento quien realizará una simulación de intervención ante cualquier desperfecto en la operación del equipo.

Tabla N° 14: Resultado de la inspección de las ampollas envasadas

Totales	Lotes de envase			Promedio
	1° Prueba	2° Prueba	3° Prueba	
N° unidades envasadas incubadas	11332	11076	10851	11086

N° unidades envasadas inspeccionadas	11332	11076	10851	11086
N° unidades contaminadas	0	0	0	0

CRITERIO DE ACÉPTACIÓN DE ACUERDO CON EL TAMAÑO DE LOTE	
Tamaño de lote de producción (Número de envases llenados)	Recomendación
Más de 10000 unidades:	Una unidad contaminada debe dar lugar a una investigación. Dos unidades contaminadas se consideran motivo de revalidación tras la investigación.

En la Tabla N°14 , En la primera prueba las unidades envasadas incubadas son 11332, en la segunda prueba las unidades envasadas incubadas son 11076 y la tercera prueba las unidades envasadas incubadas son 10851; la inspección de ampollas envasadas durante y después de la incubación de 20 a 25 °C por 7 días y de 30 a 35 °C hasta completar los 14 días se observa que no hay presencia de unidades contaminadas lo cual cumple el criterios establecidos por la OMS y las BPM para tamaños de lote de mayor a 10000 unidades: Una unidad contaminada debe dar lugar a una investigación o dos unidades contaminadas se consideran motivo de revalidación tras la investigación. los tres lotes ensayados demostraron resultados negativos, en cuanto a contaminación.

IV. OBSERVACIONES Y SUGERENCIAS

Se sugiere evaluar e implementar el control de uniformes de personal despues de la operación solo a puntos criticos.

V. DESVIACIONES

No existen desviaciones que reportar.

VI. CONCLUSIONES

El proceso de llenado aséptico en la envasadora Trukking de la linea de envase, cumple con los ensayos y parámetros de validación, por lo tanto el proceso mantiene su estado de validado.

ANEXO N°36

CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN

1. INFORMACION DEL CLIENTE

Solicitante : ÁREA DE PRODUCCIÓN - PV1

Dirección : PISO 2

INSTRUMENTO : TERMOHIGROMETRO

Marca : CONTROL COMPANY

Modelo : HTC-2

Serie : NO INDICA

Alcance : -10 °C a 50 °C (IN)
20 %HR a 99 %HR (IN)

Resolución : 0,1 °C (IN) / 0,1 °C (OUT)
1%HR (IN)

Procedencia : NO INDICA

Identificación : TH001

Los resultados presentados en este certificado de calibración son válidos solamente para este instrumento en las condiciones que es realizada la calibración.

Los resultados presentados en este certificado de calibración son trazables a patrones nacionales o internacionales de acuerdo al sistema internacional de medida (SI).

Responsable de Calibración

3. LUGAR Y FECHA DE CALIBRACION

Fecha de calibración :

Ubicación : ÁREA DE CALIBRACIÓN.

CERTIFICADO DE CALIBRACION N° 20210128001

4. METODO DE CALIBRACION

La calibración se realizó por comparación directa con patrones de temperatura y humedad, siguiendo lo establecido en el TH-007 "Procedimiento para la calibración de medidores de condiciones ambientales" CEM.

5. TRAZABILIDAD DE LA CALIBRACION

INSTRUMENTO	CERTIFICADO	CODIGO
TERMOHIGROMETRO PATRON	CCP-0251-001-20	EC-05
TERMOHIGROMETRO PATRON	T-1548-2020	MA-05448-20

6. RESULTADOS

	Inicial	Final
Temperatura (°C)	20.2	20.2
Humedad Relativa (%HR)	65.0	63.0

TEMPERATURA SENSOR INTERNO (IN)

Equipo	TCV	Corrección	Incertidumbre
°C	°C	°C	°C
15.4	15.2	-0.2	0.32
25.8	25.3	-0.5	0.32
30.5	30.2	-0.3	0.32

TEMPERATURA SENSOR EXTERNO (OUT)

Equipo	TCV	Corrección	Incertidumbre
°C	°C	°C	°C
15.5	15.4	-0.1	0.62
24.5	25.4	0.9	0.62
30.3	30.9	0.6	0.62

HUMEDAD SENSOR INTERNO (IN)

Equipo	HRCV	Corrección	Incertidumbre
%	%	%	%
63	60	-3	2.1
73	70	-3	2.1
81	79	-2	2.1

7. OBSERVACIONES

No se realizó ningún ajuste al equipo

El equipo pertenece al área de: CALIBRACIONES

Temperatura convencionalmente verdadera (TCV) = Indicación del termómetro + Corrección

Humedad relativa convencionalmente verdadera (HRCV) = Indicación del higrómetro + Corrección

La incertidumbre de medición expandida reportada es la incertidumbre de medición estándar multiplicada por el factor de cobertura $k = 2$ de modo que la probabilidad de cobertura corresponde aproximadamente a un nivel de significancia del 95%.

Próxima calibración:

---FIN DEL DOCUMENTO---