

58



# UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

LINEAMIENTOS GENERALES PARA LA  
CALIFICACION DE UNA AREA ASEPTICA

TRABAJO MONOGRAFICO DE ACTUALIZACION  
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
PRESENTA

ANA MARIA JIMENEZ RODRIGUEZ



EXAMENES PROFESIONALES  
FACULTAD DE QUIMICA



MEXICO D.F.

TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

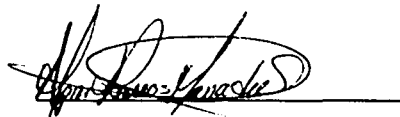
**JURADO ASIGNADO:**

**Presidente**            **NORMA TRINIDAD GONZALEZ MONZÓN**  
**Vocal**                **MARÍA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS**  
**Secretario**         **SAMUEL ENOCH ESTRADA SOTO**  
**1er. Suplente**      **ERNESTINA HERNÁNDEZ GARCÍA**  
**2º. Suplente**        **RAÚL LUGO VILLEGAS**

**SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA:**

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**

**Asesor del tema:**



**MARÍA DEL SOCORRO ALPIZAR RAMOS**

**Sustentante:**



**ANA MARÍA JIMÉNEZ RODRÍGUEZ**

A DIOS

Y

A MIS PADRES

GRACIAS!!!

de la Dirección General de Bibliotecas de la  
a difundir en formato electrónico e impreso el  
resultado de mi trabajo recepcional.

UNBRE: Ana Ma. Jiménez

Rodriguez

FECHA: 26/NOV/2002

FIRMA: 

# ÍNDICE

---

<b>OBJETIVO</b> .....	1
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	2

## **CAPÍTULO 1**

### **PRODUCTOS FARMACÉUTICOS ESTÉRILES**

1 Definición.....	4
2 Productos parenterales.....	4
2.1 Vías de administración.....	5
2.2 Razones de uso y ventajas.....	6
2.3 Clasificación de acuerdo a su estado físico.....	7
2.4 Clasificación de acuerdo a su uso.....	7
2.4.1 Parenterales de gran volumen.....	8
2.4.2 Parenterales de pequeño volumen.....	9
3 Productos oftálmicos.....	15
3.1 Vía de administración.....	15
3.2 Razones de uso.....	16
3.3 Clasificación.....	16
4 Características generales.....	17
5 Componentes de la fórmula.....	21

## **CAPITULO 2**

### **DISTRIBUCIÓN DE LA PLANTA FARMACÉUTICA**

1 Generalidades.....	23
2 Dimensiones.....	23
3 Acabados.....	
3.1 Pisos, paredes y techos.....	23
3.2 Puertas y ventanas.....	25
3.3 Servicios.....	25
4 Distribución.....	26
5 Flujo de personal.....	34
6 Flujo de materiales.....	37
7 Clasificación de áreas.....	39

## **CAPÍTULO 3**

### **CALIFICACIÓN DE ÁREA ASÉPTICA**

<b>1</b>	<b>Área aséptica</b> .....	<b>42</b>
<b>2</b>	<b>Calificación</b> .....	<b>42</b>
2.1	<b>Importancia de la calificación</b> .....	<b>43</b>
2.2	<b>Tipos de calificación</b> .....	<b>43</b>
2.3	<b>Protocolo de calificación</b> .....	<b>44</b>
<b>3</b>	<b>Validación</b> .....	<b>45</b>
3.1	<b>Tipos de validación</b> .....	<b>48</b>
3.2	<b>Elementos de la validación</b> .....	<b>48</b>
3.3	<b>Plan maestro de validación</b> .....	<b>49</b>
3.4	<b>Beneficios de la validación</b> .....	<b>50</b>
3.5	<b>¿Por qué validar?</b> .....	<b>51</b>
<b>4</b>	<b>Calibración</b> .....	<b>54</b>
<b>5</b>	<b>Control ambiental del área aséptica</b>	
5.1	<b>Unidades manejadoras de aire</b> .....	<b>54</b>
5.2	<b>Flujo de aire laminar</b> .....	<b>56</b>
5.3	<b>Parámetros a evaluar en un área aséptica</b> .....	<b>58</b>
5.3.1	<b>Parámetros físicos</b> .....	<b>58</b>
5.3.2	<b>Parámetros microbiológicos</b> .....	<b>66</b>
5.4	<b>Monitoreo ambiental</b> .....	<b>67</b>
5.5	<b>Condiciones de calificación</b> .....	<b>73</b>
5.6	<b>Sanitización</b> .....	<b>75</b>
5.7	<b>Calificación de personal</b> .....	<b>78</b>
	<b>CONCLUSIONES</b> .....	<b>80</b>
	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> .....	<b>81</b>

## **OBJETIVO**

---

**Establecer los lineamientos generales necesarios para calificar un área aséptica destinada al dosificado de productos estériles.**

**Destacar la importancia de la calificación de un área aséptica como parte esencial de la validación de un llenado aséptico, así como los beneficios que se obtienen a partir de ella.**

## **INTRODUCCIÓN**

---

Dentro de las formas farmacéuticas que requieren de un ambiente aséptico para su preparación se encuentran los productos parenterales y los oftálmicos, los cuales poseen la característica de ser estériles; es decir, libres de microorganismos.

Los productos parenterales son administrados por diferentes vías de acuerdo a la naturaleza del producto y a la respuesta terapéutica que se requiera, mediante estas vías el producto entra en contacto directo con los fluidos corporales y/o tejidos pudiendo ocasionar una severa infección o reacción pirogénica si no se tiene la precaución de asegurar su esterilidad y ausencia de pirógenos. Las preparaciones oftálmicas al igual que los parenterales deben poseer la característica de ser estériles, ya que la introducción de una solución contaminada al ojo ya lesionado provocaría un daño mayor al mismo.

Así las cosas, sea cual fuere el procedimiento de manufactura de las formas de dosificación antes mencionadas, se debe procurar la esterilidad de los mismos siguiendo adecuadamente las Buenas Prácticas de Fabricación.

Toda área aséptica debe cumplir con los requisitos de construcción para lo cual fue diseñada, por tal motivo se deben evaluar y/o monitorear los parámetros que contribuyen al buen funcionamiento de la instalación. Dentro de los servicios auxiliares y condiciones ambientales que se requieren se encuentran los siguientes parámetros:

*Parámetros físicos:* temperatura, humedad relativa, Cambios de aire por hora, velocidad de flujo de aire, presión diferencial y partículas no viables.

*Parámetros microbiológicos:* partículas viables.



Por lo anterior dicho, es esencial que el área aséptica se encuentre debidamente calificada, entendiéndose por calificación la evaluación de las características de los elementos del proceso.

De acuerdo a las guías y requerimientos establecidos por FDA, no es posible garantizar la calidad de un producto si nos limitamos únicamente al muestreo y análisis del producto terminado, es por ello que la validación de procesos juega un importante papel en cuanto a calidad se refiere. Cabe señalar que la validación de un proceso carece de valor si no se lleva a cabo primero un programa de calificación de todos los elementos involucrados en el proceso.

En el presente trabajo se establecen los lineamientos generales para calificar un área aséptica destinada a la preparación de productos estériles, esperando sea de utilidad y sirva de guía a las personas que requieran calificar dichas áreas para optimizar sus procesos, evitando rechazos, reprocesos, fallas y costos elevados, obteniendo finalmente productos seguros y de alta calidad.

## **CAPITULO 1**

### **PRODUCTOS FARMACÉUTICOS ESTÉRILES**

---

#### **1 DEFINICION <sup>1,2,3,4</sup>**

Los productos estériles son formas farmacéuticas que están libres de microorganismos viables. Comprenden los productos parenterales, oftálmicos y para irrigación.

La esterilidad se ha definido de diferentes maneras, a continuación se enuncian algunas:

- a) Ausencia total de formas de vida
- b) Probabilidad altamente aceptable de que un producto procesado en un ambiente aséptico no contiene organismos viables

Los preparados estériles son procesados de diferente manera, de acuerdo a la naturaleza y estabilidad de los fármacos de modo que garanticen la esterilidad. Las materias primas empleadas en su elaboración pueden o no ser estériles, pero debe procurarse siempre un ambiente aséptico en el proceso de dosificado, así como el uso de material estéril.

Los productos farmacéuticos estériles se clasifican de acuerdo a la vía de administración en productos parenterales y productos oftálmicos.

#### **2 PRODUCTOS PARENTERALES <sup>3,5,6,7,8,9,10,11</sup>**

Son preparaciones estériles destinadas a la administración parenteral (del griego *para*= fuera, *enteron*= intestino "fuera del intestino" y se refiere a la vía que no sea oral). Estos productos son conocidos como inyectables. Son preparados escrupulosamente mediante métodos que aseguren que el producto cumple con los requerimientos farmacopeicos, tales como esterilidad, pirógenos, material particulado y otros contaminantes.

## **2.1 VIAS DE ADMINISTRACIÓN**

La vía de administración parenteral difiere de todas las otras vías por los requerimientos que impone el hecho de que las drogas sean inyectadas directamente en el tejido corporal, atravesando el sistema protector primario de la piel y las mucosas. De ahí que los medicamentos deben ser excepcionalmente puros y estar libres de contaminantes físicos, químicos y biológicos.

Dentro de las vías de administración parenteral destacan la Intravenosa (dentro de la vena), Intramuscular (dentro del músculo), Subcutánea (bajo la piel), Intradérmica (dentro de la piel), Intraarticular (en las articulaciones), Intrasinovial (en el área de los fluidos articulares), Intraespinal (en la columna espinal), Intratecal (en el fluido cerebroespinal), Intraarterial (en las arterias), Intracardiaca (en el corazón), Intraepidural (en el espacio epidural, cerca de la columna espinal), e Intracisternal (en la región caudal del cerebro).

Todas las vías de administración antes citadas son de importancia, pero sólo destacaremos las características de las más empleadas comúnmente.

### **VIA INTRAVENOSA**

El medicamento es inyectado directamente en la vena, ya sea para obtener una rápida respuesta o para evitar la irritación de otros tejidos. Mediante esta vía se asegura en alto grado la liberación de la droga en el sitio de acción, se obtienen niveles sanguíneos óptimos con rapidez y exactitud, su empleo resulta muy eficaz en situaciones de emergencia ya que se evita el efecto de primer paso al entrar el medicamento directamente en la circulación.

Solo pueden ser administradas por esta vía soluciones acuosas o hidroalcohólicas y las venas de elección son las del área antecubital (enfrente del codo). La duración de la acción del fármaco depende de la distribución, metabolismo y excreción del mismo. Pueden presentarse reacciones desfavorables por la rapidez con que se alcanzan altos niveles de fármaco en plasma y tejidos, resultando imposible revertir el efecto una vez que se administra. La administración debe ser lenta para evitar irritación y acumulación de la droga en el órgano blanco. El riesgo de una

trombosis se incrementa cuando los productos son potencialmente irritantes o cuando se inyectan en muñecas y/o tobillos.

#### ***VIA INTRAMUSCULAR***

Esta vía de administración provee de un efecto menos rápido, pero generalmente de mayor duración que la que se obtiene por vía intravenosa. Las inyecciones se aplican en el músculo, justo debajo de la capa subcutánea. Se pueden administrar por esta vía las soluciones acuosas y oleosas, así como suspensiones donde la velocidad de absorción va a depender del tipo de preparación. Los principales sitios de inyección son los glúteos, muslos y la parte superior de los brazos. Los volúmenes inyectados van de 1 a 3mL hasta 10mL en dosis divididas.

#### ***VIA SUBCUTÁNEA***

La administración ocurre debajo de la piel y provee de un efecto menos rápido que el obtenido por vía intramuscular pero de mayor duración, ya que se obtiene un efecto sostenido y constante debido a la baja velocidad de absorción, es por tanto ideal para administrar ciertos fármacos como las hormonas.

Se emplea esta vía de administración para inyectar volúmenes pequeños de 1.3 a 2mL. Volúmenes mayores pueden causar irritación y dolor. No deben ser administrados productos que causen irritación a los tejidos, a fin de evitar necrosis y dolor. Los sitios más comúnmente empleados son los muslos y la parte alta de los brazos.

## **2.2 RAZONES DE USO Y VENTAJAS**

La explosión de la biotecnología ha producido cientos de fármacos de proteínas y péptidos que deben administrarse parenteralmente. Sigue habiendo una proliferación de antibióticos, agentes quimioterapéuticos y otros nuevos compuestos que son activos solo por la vía de administración parenteral.

Las razones por las cuales ciertas drogas son administradas parenteralmente son:

- 1) La droga no se absorbe en el tracto gastrointestinal o carece de efecto en el mismo
- 2) La droga es inactivada o destruida en el tracto gastrointestinal
- 3) Se requiere de un efecto rápido del fármaco
- 4) Estado de inconciencia del paciente
- 5) Falta de cooperación del paciente
- 6) Dificultad para deglutir

La vía de administración parenteral presenta ciertas ventajas en comparación con otras vías y entre ellas destacan: el efecto rápido y predecible de la droga, la gran biodisponibilidad y se evitan problemas de absorción ya que el fármaco entra directamente en la circulación.

### **2.3 CLASIFICACIÓN DE ACUERDO A SU ESTADO FÍSICO**

Los parenterales pueden clasificarse de acuerdo a su estado físico y uso clínico. De acuerdo a su estado físico, los inyectables pueden ser clasificados en 6 categorías generales :

- 1) Soluciones listas para inyectar
- 2) Productos secos y solubles listos para ser disueltos inmediatamente antes de usarlos.
- 3) Suspensiones listas para inyectar
- 4) Productos secos insolubles listos para ser combinados con un vehículo inmediatamente antes de usarlos.
- 5) Emulsiones
- 6) Líquidos concentrados listos para su dilución antes de administrarlos.

### **2.4 CLASIFICACIÓN DE ACUERDO A SU USO**

Los productos parenterales se clasifican en:

2.4.1 Parenterales de gran volumen

2.4.2 Parenterales de pequeño volumen

#### **2.4.1 PARENTERALES DE GRAN VOLUMEN (LVPs) <sup>9,9,12,13,14</sup>**

Son soluciones estériles destinadas para uso intravenoso, las cuales son envasadas en contenedores de más de 100mL y menos de 1000mL para uso humano. Otros productos que no son de uso parenteral, pero que entran en esta categoría por ser de gran volumen, son las soluciones para irrigación o diálisis. Estas últimas son envasadas en contenedores de más de 1000mL.

A los parenterales de gran volumen (LVPs por sus siglas en inglés) que son destinados para administración intravenosa, se les conoce también como fluidos intravenosos o fluidos para infusión.

Los LVPs incluyen las soluciones y emulsiones, los cuales deben ser esterilizados de manera terminal. Aunque es deseable que las soluciones intravenosas sean isotónicas para minimizar el trauma en los vasos sanguíneos, se pueden administrar soluciones de gran volumen hipertónicas e hipotónicas exitosamente. En la nutrición parenteral se emplean soluciones hipertónicas concentradas. Las emulsiones parenterales (0.5 micras de tamaño de partícula) pueden también ser administradas por vía intravenosa.

#### **CARACTERÍSTICAS**

Todos los parenterales de gran volumen deben ser:

1. Estériles
2. No pirogénicos
3. Libres de material particulado
4. Envasados en contenedores de dosis única
5. Libres de preservativos
6. Volumen no mayor de 1000 mL (100 a 1000mL)

Cabe señalar que no es posible el uso de preservativos ya que la concentración antimicrobiana efectiva resulta tóxica al administrar grandes volúmenes. Los contenedores pueden ser de vidrio o plástico rígido o semirígido.

### *USO CLÍNICO*

Las soluciones parenterales de gran volumen se emplean como terapia de mantenimiento en los pacientes que se recuperan de una cirugía, para corregir alteraciones en el balance electrolítico por pérdida de ellos en los fluidos corporales, o bien como nutrición parenteral en pacientes inconscientes e incapaces de ingerir líquidos y alimentos. Actualmente se utilizan como vehículos para administrar medicamentos. Las soluciones para nutrición parenteral contienen aminoácidos, altas concentraciones de azúcares, electrolitos, vitaminas y algunas veces insulina. Estas soluciones hipertónicas son necesarias para mantener un adecuado aporte de calorías. La nutrición y la hidratación se han considerado como terapias de sostenimiento en pacientes en fase terminal.

### *SOLUCIONES PARA IRRIGACIÓN Y DIÁLISIS*

Son soluciones estériles de gran volumen que no se administran por vía intravenosa. Se preparan de la misma manera que los fluidos intravenosos y se envasan en botellas o bolsas de plástico flexible y/o semirígido de más de 1000mL, dichos envases están diseñados para un vaciamiento rápido. Algunos ejemplos de estos preparados son las soluciones para irrigación quirúrgica, las soluciones para irrigación urológica y las soluciones de glicina.

### **2.4.2 PARENTERALES DE PEQUEÑO VOLUMEN (SVPs)** <sup>2,4,9,10,12,15,16,17,18,19,20,21,22,23,24</sup>

Son preparaciones inyectables (parenterales) que se envasan en contenedores de 100mL o menos. Todos los productos estériles envasados en viales, ampollitas, jeringas, cartuchos, botellas u otro envase de menos de 100ml entran en esta clasificación. De acuerdo a la estabilidad del fármaco, los parenterales de pequeño volumen (SVPs por sus siglas en inglés) pueden ser esterilizados de manera terminal o por filtración a diferencia de los LVPs que son esterilizados de

manera terminal. Mientras que los LVPs son administrados por vía intravenosa, los SVPs son administrados por varias rutas, entre las que destacan la intravenosa, la intramuscular, la subcutánea y otras rutas secundarias más complejas como son la intraperitoneal e intracardiaca, por mencionar algunas.

### **CARACTERÍSTICAS**

1. Estériles
2. Libres de pirógenos
3. Libres de material particulado
4. Envasados en contenedores de dosis única o multidosis
5. Pueden o no contener preservativos
6. Volumen no mayor de 100mL

### **USOS**

Los SVPs se emplean como agentes terapéuticos y/o agentes de diagnóstico. Existen más de 400 productos inyectables descritos en la USP, entre los cuales se encuentran los productos hormonales, vitaminas, esteroides, barbitúricos y muchos más. Los SVPs están disponibles en envases de dosis única o múltiple. Los productos oftálmicos entran en esta categoría por su tamaño, pero debido a la vía de administración empleada se discutirán más adelante. Dentro de los agentes de diagnóstico se encuentran los radiofármacos, los cuales se usan para evaluar la función de algún órgano. Estos productos deben ser estériles y libres de pirógenos. Son soluciones que contienen elementos radioactivos como el yodo, cromo y tecnecio.

### **SOLUCIONES**

Los productos inyectables más comunes son las soluciones. Muchas de las soluciones inyectables se preparan disolviendo el fármaco y preservativo, ajustando el pH, filtrando la solución a través de un filtro de membrana adecuado y cuando es posible, esterilizando de manera terminal. Se adiciona un agente antimicrobiano a los SVPs que no pueden ser esterilizados de



manera terminal o que se presentan en envases multidosis. Algunos productos no necesitan el uso de un preservativo debido a que el ingrediente activo, el vehículo, el pH o la combinación de ellos presentan efecto preservativo.

Las soluciones inyectables pueden ser acuosas o no acuosas. Las acuosas contienen agua inyectable como vehículo. Las soluciones no acuosas contienen aceite vegetal como vehículo, el cual es seguro para su uso. Las soluciones que contienen aceite no deben ser esterilizadas de manera terminal, debido a la falta de humedad del mismo, necesaria para generar vapor saturado para destruir los microorganismos. Se preparan esterilizando por separado el fármaco y el vehículo. Se pueden usar solventes no acuosos para disolver fármacos insolubles en agua y administrarse por vía intramuscular y subcutánea.

### **SUSPENSIONES**

Las suspensiones farmacéuticas en general se definen como sistemas heterogéneos sólido-líquido, formados por partículas sólidas insolubles, suspendidas o dispersadas en una fase líquida. La formulación de una suspensión inyectable consiste de un ingrediente activo suspendido en un vehículo acuoso, un preservativo antimicrobiano, un agente surfactante, un agente dispersante o suspensor y algunas veces un regulador de pH o una sal. Las suspensiones estériles generalmente son administradas por vía intramuscular, intradérmica, intrarticular y subcutánea.

Las suspensiones inyectables se preparan de dos maneras:

- a) Mediante combinación aséptica del vehículo y fármaco en polvo estériles.
- b) Mediante combinación de soluciones estériles, los cristales se forman *in situ*.

El uso de las suspensiones se justifica cuando el principio activo es poco soluble o insoluble en solución acuosa o cuando se quiere prolongar la actividad del mismo. Algunos de los aspectos que se deben considerar son:

- a) Resuspendibilidad de la droga en el vehículo, que permita un dosificado y llenado homogéneo.

- b) El endurecimiento y/o sedimentación del fármaco en un producto físicamente inestable
- c) La jeringibilidad. Capacidad de extraer con una jeringa, una dosis homogénea.
- d) La inyectabilidad. Capacidad de inyectar el producto a través de la aguja.

La jeringibilidad y la inyectabilidad se relacionan con la viscosidad y las características de las partículas. Las suspensiones deben agitarse vigorosamente antes de administrarse para homogeneizar el producto y de esta manera garantizar la precisión y uniformidad en la dosis. Dos factores que determinan la precisión de cada dosis son la homogeneidad de la dispersión y el volumen de administración, y esto depende de la viscosidad del fluido y/o del utensilio de medida, más no de la destreza del usuario.

### **EMULSIONES**

Las emulsiones son sistemas bifásicos en los que un líquido es dispersado en forma de diminutas gotas en otro líquido. Cuando el aceite es la fase dispersa y la fase acuosa es la continua, el sistema se designa como una emulsión aceite en agua .

La preparación de emulsiones parenterales puede resultar un tanto difícil, debido a que es necesario obtener gotas estables de menos de 1 micra para prevenir una oclusión de los vasos sanguíneos. Las emulsiones pueden administrarse por diferentes vías según sea el propósito, ejemplo de ello son las emulsiones de extractos alérgicos agua en aceite que se administran por vía intramuscular o las emulsiones de nutrientes aceite en agua que se administran por vía intravenosa. En la formulación de emulsiones parenterales está muy limitada la selección de estabilizadores y agentes emulsificantes, debido a la vía de administración empleada y al método de esterilización por vapor saturado.

Dentro de los muchos aceites vegetales que se emplean en estos preparados, se encuentran los de leguminosas y semillas de algodón, los cuales muestran menos respuestas tóxicas y son muy resistentes a la oxidación.

La naturaleza de la fase oleosa presenta gran influencia en la estabilidad de una emulsión . Los ácidos grasos libres del aceite de castor, por ejemplo pueden actuar como co-surfactantes y suprimir la coalescencia y floculación de las partículas lipídicas, lo que conlleva a un factor adicional de la estabilidad. La liberación de una droga hidrofílica en una emulsión agua en aceite, puede controlarse mediante el uso de diferentes gradientes osmóticos, de tal manera se puede controlar la liberación de algunos fármacos como los péptidos.

### *PRODUCTOS SECOS*

Muchos fármacos son inestables en solución, por tal motivo se les prepara como polvos secos, los cuales son reconstituidos con agua estéril inyectable o agua bacteriostática inyectable inmediatamente antes de su administración. De esta manera se pueden obtener soluciones, suspensiones, o bien emulsiones acuosas estériles. Si el producto no contiene ninguna sustancia agregada, se le denomina "producto estéril". Si el producto contiene reguladores de pH, diluentes u otra sustancia agregada, se le denomina "producto para inyección". Los polvos estériles se preparan mediante tres métodos: liofilización, cristalización y spray drying.

### LIOFILIZACIÓN

La liofilización es un proceso en el cual el agua es removida del producto después de que este es congelado, se aplica vacío para permitir que el hielo pase de estado sólido a gaseoso, sin pasar por el estado líquido (sublimación).

El proceso de liofilización consiste en tres procesos y/o etapas:

- a) Congelamiento del producto
- b) Sublimación del solvente congelado (primer secado)
- c) Calentamiento del producto a temperatura ambiente. (segundo secado) Se obtiene el producto seco.

Algunos de los agentes terapéuticos que son inestables en solución acuosa son los péptidos y proteínas. La liofilización es un método ideal para la estabilización de tales productos y el uso de aditivos se hace necesario para preservar la estructura y la actividad de los mismos durante la liofilización. Los sacáridos son algunos de los lioprotectores que se emplean para proteger algunas enzimas. La mayoría de los productos secos estériles, se preparan por liofilización y se requiere de control aséptico en el mismo. Cabe señalar que nuevos productos parenterales se fabrican de esta manera e incluye los productos de diagnóstico *in vitro* y derivados biotecnológicos.

Los productos liofilizados ofrecen la ventaja de mejorar la estabilidad en estado seco, remover el agua sin necesidad de calentamiento excesivo, rápida y fácil disolución del producto y exactitud en la dosis. Las desventajas incluyen el tiempo de proceso; así como, el costo y complejidad del equipo.

La liofilización se restringe a los productos que son solubles en agua y/o estables a la hidrólisis al menos en el tiempo requerido para el congelamiento. Algunos estudios destacan el uso de solventes orgánicos que son sólidos a temperatura ambiente (clorobutanol y dimetilsulfona), para liofilizar compuestos hidrofóbicos y sensibles a la humedad sin hacer uso del equipo convencional. Otros estudios destacan la influencia de algunos parámetros, tales como el efecto protector de los crioprotectores, la velocidad de congelamiento y el tratamiento térmico, para preservar el tamaño de partícula de algunos fármacos en dispersión.

### CRISTALIZACIÓN ASÉPTICA

Muchos antibióticos, especialmente las cefalosporinas, se fabrican por cristalización aséptica del fármaco. Esta técnica se usa principalmente para fabricar suspensiones acuosas estériles. Cabe señalar que la variedad de solventes orgánicos que pueden emplearse en la cristalización, es muy amplia.

El proceso de cristalización consiste en disolver el fármaco en un solvente adecuado y filtrar a través de un filtro de membrana apropiado. Se adiciona un segundo solvente para que el fármaco cristalice o precipite, posteriormente se colectan los cristales en un embudo con filtro y se aplica vacío para secarlos. Los cristales obtenidos pasan entonces a la operación de molienda y mezclado para obtener el tamaño de partícula deseado. Algunas de las variables que hay que controlar para obtener cristales puros y de calidad son, la temperatura, el pH, velocidad de adición del solvente y tiempo de mezclado. Este proceso en comparación con la liofilización resulta más económico aunque se corre más riesgo de que el producto se contamine durante el proceso.

### SPRAY-DRYING (ESFERONIZACIÓN)

En este proceso, el producto en solución se esteriliza por filtración y se alimenta en la cámara de secado a través de un atomizador. Las pequeñas gotas que se obtienen, entran en contacto con el aire caliente de la cámara, el solvente se evapora y se obtiene el fármaco en polvo en forma de esferas huecas, posteriormente se lleva a cabo el proceso de llenado aséptico del polvo. Este método requiere de la esterilización de grandes volúmenes de aire, pero resulta aún más económico que la liofilización.

## **3 PRODUCTOS OFTÁLMICOS** <sup>2,6,7,10,12,25,26</sup>

Son preparados estériles líquidos, sólidos o semisólidos, destinados a la administración sobre el glóbulo ocular y/o en la conjuntiva o introducidos en el saco conjuntival. Los preparados oftálmicos que se administran por instilación deben ser estériles y libres de material particulado, pero debido a que son administrados tópicamente, no requieren ser libres de pirógenos.

### **3.1 VIA DE ADMINISTRACIÓN**

Los productos oftálmicos se administran tópicamente sobre la cornea o conjuntiva. Algunos fármacos son administrados parenteralmente por vía subconjuntival o por inyección retrobulbar.

### **3.2 RAZONES DE USO**

En el tratamiento de enfermedades oculares, algunas veces se prescriben medicamentos que pueden causar efectos adversos cuando se les administra de manera oral, como ejemplo podemos citar la administración de acetazolamida en el tratamiento de glaucoma. Los preparados oftálmicos son de elección en dichos casos, ya que se administran en el ojo y ejercen su efecto directamente en él.

### **3.3 CLASIFICACIÓN**

De acuerdo a su estado físico, los productos oftálmicos se clasifican en gotas, lociones, preparaciones semisólidas e insertos.

#### ***GOTAS OFTÁLMICAS***

Las gotas oftálmicas son suspensiones o soluciones acuosas u oleosas estériles que contienen uno o más ingredientes activos y se administran por instilación dentro del ojo. Cuando el fármaco es inestable en solución o poco soluble, se prepara como polvo seco estéril para después ser disuelto o suspendido en un vehículo adecuado antes de administrarse. El tamaño de partícula en las suspensiones es un factor que debe considerarse para evitar irritación en el ojo.

Las gotas oftálmicas pueden contener excipientes, para ajustar la tonicidad, la viscosidad, el pH, incrementar la solubilidad del fármaco o estabilizar la preparación. Se ha investigado la propiedad que tienen algunos polímeros (polivinil alcohol e hidroxipropil metilcelulosa) de incrementar la viscosidad de las suspensiones y se ha encontrado que en estos preparados aumenta la absorción del fármaco en la cornea, debido a que permanece más tiempo en la superficie conjuntival, así como su biodisponibilidad. Los preparados en envases multidosis, contienen un preservativo antimicrobiano, excepto cuando el principio activo posee propiedades antimicrobianas. Estos envases no contienen más de 10ml del medicamento. No deben usarse las soluciones después de 4 semanas de abierto el envase. Los productos que se emplean en cirugía no presentan preservativos y se envasan en contenedores de dosis única.

### **LOCIONES OFTÁLMICAS**

Son soluciones acuosas que se usan para lavar los ojos o para impregnar el vendaje de los mismos. Contienen excipientes para ajustar la tonicidad, la viscosidad, el pH. Contienen un preservativo antimicrobiano si se presenta en envase multidosis, excepto cuando el fármaco posee propiedades antimicrobianas. No contienen preservativos cuando se emplean para propósitos quirúrgicos. Las soluciones deben ser claras y libres de partículas extrañas a simple vista. Los envases multidosis contienen no más de 200ml de producto. El periodo de uso después de abierto el envase no debe exceder 4 semanas.

### **PREPARACIONES SEMI-SÓLIDAS OFTÁLMICAS**

Son pomadas, cremas o geles estériles que se aplican en la conjuntiva. Contienen uno o más ingredientes activos disueltos o dispersos en una base adecuada. Presentan una apariencia homogénea. Son envasadas en pequeños tubos estériles con un contenido no mayor de 5mg del producto, pueden también ser envasadas en contenedores de dosis única. Dentro de las pruebas que deben realizarse al producto, destaca el tamaño de partícula.

### **INSERTOS OFTÁLMICOS**

Son preparaciones sólidas o semisólidas estériles de forma y tamaño adecuado, diseñadas para introducirse en el saco conjuntival. Generalmente el ingrediente activo está embebido en una matriz o está cubierto por una membrana que permite su liberación controlada del producto en un periodo de tiempo determinado. Deben cumplir con la prueba de uniformidad de contenido. Son distribuidos individualmente en contenedores estériles.

## **4 CARACTERÍSTICAS GENERALES** <sup>3,5,6,8,10,12,27,28,29,30,31,32</sup>

Todos los productos parenterales deben ser estériles, no pirogénicos y libres de material particulado. A diferencia de estos productos, los preparados oftálmicos no requieren estar libres de pirógenos, debido a la vía de administración empleada.

## **ESTERILIDAD**

La esterilidad se define como la condición en la cual un artículo es totalmente libre de toda forma de vida. Para mantener la esterilidad de un producto es necesario llevar a cabo ciertos procesos que garanticen la esterilidad del mismo, tales como la limpieza y desinfección del área y equipo, limpieza y esterilización de utensilios y envases, la filtración aséptica del producto o la esterilización terminal, se debe contar con la certificación de las áreas con flujo laminar, realizar un monitoreo ambiental del área, equipo y personal para el control microbiológico y de partículas. Debe llevarse a cabo un proceso de hermeticidad para mantener la esterilidad del producto terminado, el personal debe estar debidamente capacitado y deben validarse todos los procesos involucrados. Se deben realizar pruebas de esterilidad. Dentro de los métodos de esterilización destacan, la esterilización por vapor, calor seco, óxido de etileno, radiación y filtración.

## **PIROGENOS**

Los pirógenos al ser inyectados, pueden causar fiebre, escalofríos, malestar en general, pudiendo ser letales en el paciente gravemente enfermo, es por ello que no deben estar presentes en los productos parenterales. Las dosis bajas de pirógenos inducen reacciones inflamatorias sin que se presenten síntomas clínicos significativos. Las dosis moderadas inducen fiebre y cambios significativos en la composición del plasma. Las dosis altas de pirógenos pueden llevar a un choque séptico, caracterizado por disfunción cardiovascular, vasodilatación, vasoconstricción, disfunción del endotelio y disfunción de un órgano, seguido de fallas múltiples de órganos y muerte. Cabe mencionar que esta característica no aplica para productos oftálmicos.

Los pirógenos (endotoxinas) son productos del metabolismo microbiano, las sustancias pirogénicas más potentes son constituyentes de la pared celular de las bacterias gram negativas. Las bacterias gram positivas y los hongos también producen pirógenos pero de menor potencia. Las endotoxinas son lipopolisacáridos de alto peso molecular, solubles en agua y resistentes al calor húmedo, por tal razón no son destruidos por esterilización en autoclave, ni por filtración. La manera en que pueden ser destruidos es por calor seco y eliminados del agua, por un proceso de



destilación u ósmosis inversa. Para tener un control de pirógenos es necesario llevar a cabo un adecuado proceso de limpieza, así como trabajar lo más rápido posible para evitar el crecimiento microbiano.

#### ***MATERIAL PARTICULADO***

Pueden ser de tamaño, morfología y naturaleza química diferente y no deben estar presentes en los preparados parenterales y oftálmicos. Las fuentes de contaminación incluyen los materiales de empaque, componentes de la formulación, y otros factores involucrados en la manufactura. En cuanto al material de empaque, la contaminación puede originarse a partir de los cierres de goma con o sin silicón, así como de los envases de plástico y vidrio. Las variables de manufactura que pueden producir material particulado incluyen, el flujo y la calidad del aire, los filtros, el equipo, el personal y el seguimiento de procedimientos erróneos. La formulación de un producto, incluyendo el medio, los ingredientes activos y/o excipientes, pueden ser causa de contaminación particulada. Otra fuente de contaminación incluye, el mecanismo o aparato usado para administrar el producto así como su manipulación. La agitación, el tiempo de almacenamiento y/o la temperatura pueden influir en los resultados de material particulado. Algunos estudios han demostrado que la presencia de material particulado puede inducir a efectos fisiológicos adversos, tales como la reducción del flujo coronario entre otros. Actualmente el número de partículas en los parenterales es sumamente bajo y el riesgo que se corre es mínimo.

#### ***ISOTONICIDAD***

Los parenterales de pequeño volumen, incluyendo los productos oftálmicos, deben ser isotónicos con la sangre, con las lágrimas y otros fluidos biológicos en donde el medicamento va a ser administrado. Esto quiere decir que los líquidos corporales y la solución a ser aplicada poseen la misma presión osmótica. Si la solución a inyectar y/o a instilar es hipertónica o hipotónica, puede presentarse irritación tisular y dolor. Generalmente puede tolerarse un amplio rango de osmolaridad (a excepción de la vía intratecal) sin serios problemas.

### ***EXCESO EN EL VOLUMEN DE LLENADO***

En los productos parenterales en solución debe adicionarse un exceso de volumen, para asegurar la extracción completa del medicamento indicada en la etiqueta. De acuerdo a la USP, el exceso sugerido se basa en el volumen del producto terminado, así como en las características del vehículo.

### ***ENVASADO***

La selección de un envase se basa en la composición del mismo, en el producto a envasar y en el tratamiento al que será sometido. Los contenedores que generalmente se usan son de vidrio y plástico semi-rígido y flexible. Dentro de los plásticos más usados destacan el cloruro de polivinilideno, poliolefina y el poliestireno entre otros. Es necesario considerar las propiedades del tipo de envase, así como del producto, ya que algunos productos son absorbidos por el plástico. Los envases pueden ser multidosis o de dosis única, de acuerdo al volumen de administración requerido y al uso clínico.

### ***ETIQUETADO***

Se debe identificar el fármaco de manera clara y legible, especificar su concentración, manejo y condiciones de almacenamiento.

### ***ESTABILIDAD***

Para mantener la estabilidad de un producto es necesario elegir adecuadamente los componentes de la formulación, así como su tipo de envase y condiciones de almacenamiento. Algunos fármacos son sensibles a la oxidación, otros pueden reaccionar con el envase primario o con los componentes de la formulación; o bien, pueden degradarse en presencia de la luz, del calor, de la humedad, del pH, de iones metálicos y peróxidos. Por tal motivo es necesario el uso de envases que protejan al producto de la luz y el empleo de sustancias agregadas que mantengan la estabilidad del producto, como son los antioxidantes, antimicrobianos, reguladores de pH, surfactantes, solubilizadores, ajustadores de la isotonicidad y agentes protectores.

## **5 COMPONENTES DE LA FORMULA** <sup>6,9,10,12,33,34</sup>

### **FÁRMACO**

Los fármacos deben cumplir con ciertas características que aseguren la solubilidad y estabilidad de la droga, entre ellos destacan la forma cristalina de los mismos, la formación de sales, así como, el pH y pKa.

### **VEHÍCULOS**

En la elaboración de productos estériles el agua empleada debe ser agua inyectable, agua bacteriostática inyectable y/o agua estéril inyectable. Pueden emplearse solventes no acuosos cuando el fármaco es insoluble en agua. Debe considerarse su toxicidad y la concentración en la formulación.

### **SUSTANCIAS AGREGADAS**

Son sustancias que se agregan a la formulación para aumentar la solubilidad de la droga, mantener y mejorar la estabilidad química de una solución, asegurar la esterilidad del producto o para evitar incomodidades al paciente.

### **ANTIOXIDANTES**

La oxidación de un producto puede prevenirse con el uso de bisulfito, metasulfito y sulfito de sodio, formaldehído sulfoxilato de sodio y tiourea entre otros. Estas sales mantienen la estabilidad del producto ya que son oxidadas preferencialmente. Comúnmente se emplean EDTA, ácido cítrico y ácido tartárico para quelar iones metálicos que pudieran catalizar la reacción de oxidación. Dichos metales pueden estar presentes como impurezas en la materia prima, en los solventes y/o en los envases. Durante los procesos de fabricación y/o llenado-sellado, se emplean nitrógeno, argón o dióxido de carbono para desplazar el aire de los productos que contienen fármacos que se oxidan fácilmente.

### **AGENTES ANTIMICROBIANOS**

Se emplean principalmente en los productos envasados en recipientes multidosis. Deben estar presentes en una concentración segura y eficaz para inhibir el crecimiento microbiano. Los más comunes son el fenol, clorobutanol, cloruro de benzalconio y timerosal, entre otros.

### **REGULADORES DE PH**

Se usan para estabilizar una solución contra la degradación química que puede producirse si el pH cambia apreciablemente. Usualmente se emplean citratos, acetatos y fosfatos.

### **AGENTES SURFACTANTES Y SOLUBILIZADORES**

Los solubilizadores se emplean para incrementar la solubilidad de los fármacos. Entre los más usados destacan el alcohol etílico, glicerina, polietilenglicol, propilenglicol y lecitina. Los agentes surfactantes se emplean para dispersar un fármaco insoluble en agua o para evitar el crecimiento de cristales en una suspensión. Los más usados son el polioxietileno y el monooleato de sorbitán.

### **AGENTES PARA AJUSTAR ISOTONICIDAD**

Se emplean para lograr la isotonicidad de un producto parenteral u oftálmico, ya que los cambios de presión osmótica entre la solución a administrar y las células puede provocar crenación o hemólisis de las mismas. Se emplea cloruro de sodio, cloruro de potasio o dextrosa.

### **PROTECTORES**

Se emplean para evitar la pérdida de actividad del principio activo; así como, para evitar la adsorción del mismo al envase primario y/o al equipo de fabricación. Se usan principalmente en formulaciones liposomales y proteínicas. Los crioprotectores y lioprotectores se usan para evitar la pérdida de integridad del principio activo durante la congelación y secado respectivamente, en un proceso de liofilización. Los más empleados son lactosa, sacarosa, maltosa y albúmina sérica humana.

## **CAPITULO 2**

### **DISTRIBUCIÓN DE LA PLANTA FARMACÉUTICA**

---

#### **1 GENERALIDADES <sup>35,36</sup>**

Las instalaciones donde se preparan productos estériles deben ser planeadas estratégicamente, de manera que mantengan un ambiente limpio. Todas las áreas en general, deben cumplir con ciertos requisitos de construcción y diseño para facilitar su limpieza, así como de dimensión para un mejor control ambiental y comodidad del personal, pero el área aséptica debe además, satisfacer controles más rigurosos para evitar la contaminación viable y no viable de los productos estériles durante el proceso de llenado aséptico.

Un establecimiento de la industria químico farmacéutica debe estar localizado, diseñado, construido y conservado de acuerdo con las operaciones que en él se efectúen. Su construcción y distribución debe asegurar la protección de los productos contra la contaminación.

#### **2 DIMENSIONES <sup>35,36,37,38</sup>**

Las dimensiones de las diferentes áreas están en función del tamaño del equipo que se va a instalar, de la carga de producción, así como del proceso que se vaya a realizar. En el caso de áreas asépticas, entre más pequeño sea el cuarto de llenado, mayor será el control ambiental dentro de él. El tamaño de cada cuarto debe permitir el libre flujo y cómodo desempeño del personal, así como el correcto flujo de materiales y graneles, evitando la acumulación de los mismos.

#### **3 ACABADOS <sup>3,35,36,37,38,39,40,41,42,43</sup>**

##### **3.1 PISOS, PAREDES Y TECHOS**

Los pisos, paredes y techos de un cuarto limpio juegan un papel muy importante en el diseño del mismo, ya que el objetivo principal es mantener la carga microbiana al mínimo en sus superficies,

las cuales deben ser lisas, sin depresiones, grietas y/o huecos, deben ser lavables, extremadamente durables y resistentes a los agentes químicos desinfectantes. Las uniones pared-techo, pared-pared y pared-piso deben ser cóncavas (media caña), para permitir que el aire circule libremente, evitar la acumulación de polvos y facilitar su limpieza. A estas características de construcción se les denomina acabados sanitarios.

Los bancos de trabajo y lavamanos cuando los hubiere, deben presentar los mismos acabados antes citados, de manera que la superficie de los mismos sea continua con la pared y el piso. Para lograr un acabado de alta calidad, es necesario que el personal que lo realiza lo sea también y de esta manera asegurar que el PVC (Cloruro de polivinilo) de las curvaturas de cada unión sea moldeado perfectamente.

En el pasado se emplearon extensamente las pinturas epóxicas para recubrir techos paredes y pisos, mientras que las uniones eran selladas con silicón. En aquel tiempo estos métodos eran aceptados, pero las prácticas de trabajo han avanzado y los estándares deben ser más precisos. Debido al corto tiempo de vida media que presentan el silicón y las pinturas epóxicas, ya no se usan a menos que la clasificación del cuarto sea baja.

La industria y las especificaciones actuales demandan el uso de otros materiales que cumplan con los requerimientos futuros y actuales. Entre estos materiales destacan el PVC liso y antiderrapante para pisos, mientras que el PVC liso es la única opción para las paredes y techos. Algunas ventanas, paneles luminosos y cámaras de transferencia se construyen de PVC rígido y se soldan directamente al PVC de las paredes, de tal manera que las uniones son más resistentes y libres de fracturas. Estos materiales proveen de superficies lisas, durables, resistentes a los golpes, abrasiones y al uso continuo de desinfectantes. Existen algunas compañías británicas que fabrican este tipo de materiales y entre ellas se encuentran Altro y Mipolam.

#### **4 DISTRIBUCIÓN** 3.9,27,35,36,37,38,39,40,44, 45,46

La distribución de la planta debe ser tal que permita el flujo eficaz y racional de materiales y personal, el cual deberá ser en un solo sentido y evitando flujos encontrados para evitar contaminaciones, esto se logra por la separación de las diferentes áreas y el acceso controlado a ellas. Las diferentes áreas se deben integrar de tal manera que sigan una secuencia lógica de actividades. Ver Fig. 1.

El acceso a las áreas de producción y almacén debe ser controlado y seguro y usando la indumentaria adecuada. En especial, el acceso al área de llenado, el cual debe ser a través de pasajes con aire a presión. Se deben mantener niveles de limpieza en las áreas adyacentes al área crítica aséptica y en ella misma. Contiguas a ésta se deben localizar las áreas de lavado y preparación de materiales y equipo, esterilización, fabricación, vestidores, cuarentena, almacenes, entre otras. Ver Fig. 1. Las instalaciones deben tener corredores y falsos plafones para alojar cualquier tipo de ducto y tubería, así como los sistemas manejadores de aire.

El área de almacén debe garantizar la calidad de los productos e insumos que se reciben y distribuyen a las diferentes áreas.

Cabe señalar que los productos en polvo, como son los betalactámicos, cefalosporinas y algunos hormonales; deberán producirse y acondicionarse en plantas diseñadas y construidas especialmente para ello y completamente separadas de la planta donde se elaboran soluciones y suspensiones estériles, así como otro tipo de formas farmacéuticas. Otros productos que requieren la construcción de plantas independientes por considerarse de alto riesgo son los citotóxicos, inmunodepresores, hemoderivados, biológicos microbianos y virales.

Hay que tomar en cuenta que cuando se diseña una instalación destinada a procesos asépticos, la separación y distribución de las diferentes áreas juegan un papel muy importante en cuanto a control ambiental se refiere.

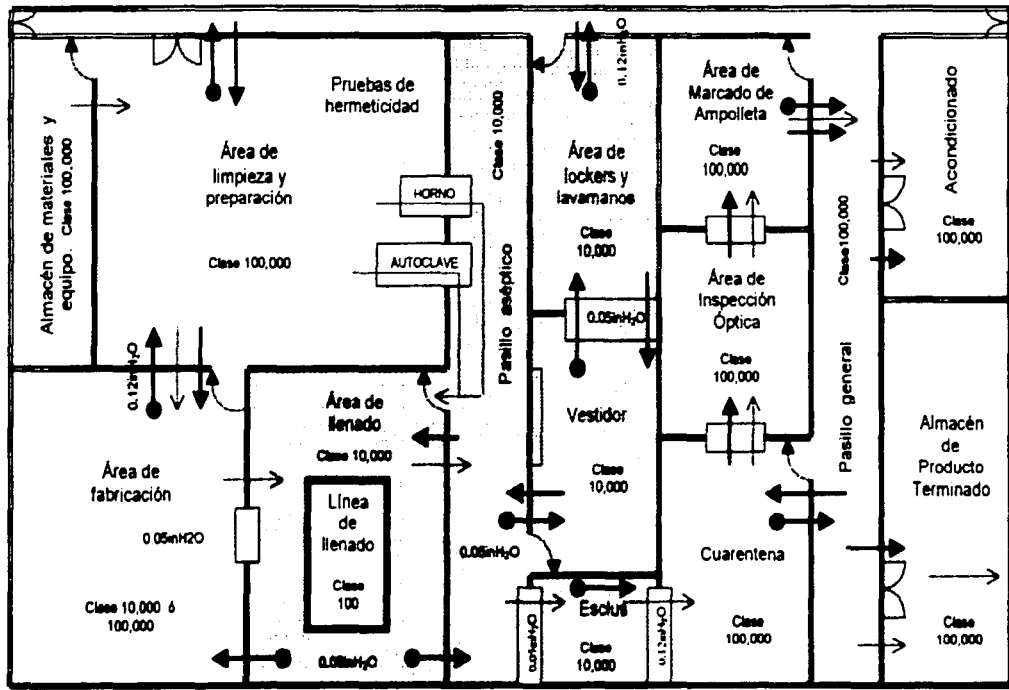


FIG. 1 DISTRIBUCIÓN DE ÁREA ASÉPTICA Y ZONAS ADYACENTES  
 Flujo de materiales → Flujo de personal → Flujo de aire ●→



Debido a que el área de llenado aséptico debe cumplir con los requisitos de control ambiental más rigurosos, es necesario que la distribución, separación y diseño de las áreas adyacentes sea tal, que sirva de protección a esta zona. Dentro de las principales áreas o zonas antes citadas destacan el ambiente externo de la planta, el almacén, el área de producción general, el área de pesado y mezclado conocida como área gris y el área de llenado conocida como área blanca, hasta llegar a la estación de llenado o máquina llenadora. En la figura 2, se muestran las diferentes áreas desde el ambiente menos limpio al más limpio.

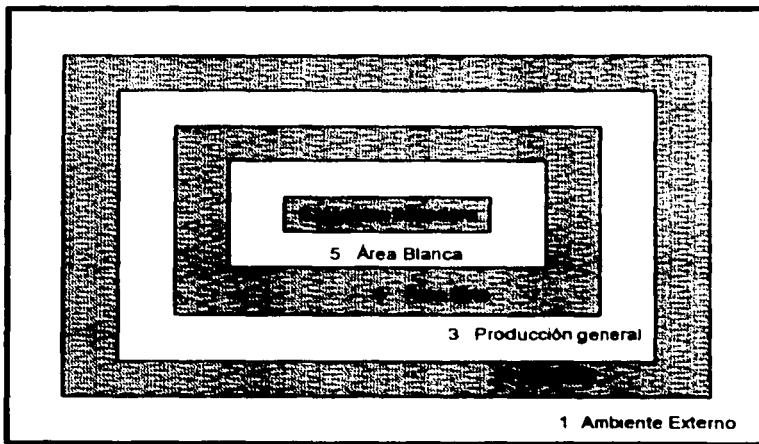


FIG. 2 Protección ambiental de las áreas

#### 1. AMBIENTE EXTERNO

La primera zona de control ambiental es el ambiente mismo donde se localiza la planta. Esta zona puede ser controlada desde el momento en que se escoge el lugar donde se va a construir. Se recomienda que la zona no sea altamente industrializada, ya que esto generaría grandes problemas de contaminación.

Se deben realizar fumigaciones periódicas para erradicar todo tipo de fauna nociva dentro y fuera de todas las instalaciones de la planta.

Los roedores e insectos, entre otra fauna nociva, son atraídos desde el medio externo y son más comunes en las áreas donde existen restos alimenticios, es por ello que el comedor y los sitios destinados al depósito de basura y desechos orgánicos deben permanecer completamente separados de las áreas administrativas y productivas, debiendo someterse también al control de fauna nociva.

Actualmente se emplean insecticidas por nebulización y pulverización para desinfección y desinsectación; así como, portacebos y cebos para el control de roedores. Es importante señalar que los plaguicidas son objeto de vigilancia por parte del gobierno federal para disminuir riesgos a la salud y efectos adversos al ambiente. En el CFR 21 se establece que los rodenticidas, insecticidas y fungicidas sólo deben emplearse si están registrados y se usan de acuerdo a la Ley Federal sobre Insecticidas, Fungicidas y Rodenticidas (FIFRA) 7 U.S.C 135. En el catálogo oficial de plaguicidas se citan algunos cuya fabricación, formulación, comercialización y uso están prohibidos.

## 2. ALMACÉN

La dimensión de esta zona usualmente es más grande que las áreas de producción aunque menos controlada contra contaminación. Es la primera zona que ofrece una mínima protección ambiental a través de sus paredes. Debe estar junto a las áreas de producción pero aislado para evitar el paso de contaminantes. En este lugar se lleva a cabo la recepción de materiales y productos, es por ello que sus accesos permanecen abiertos la mayor parte del tiempo, pudiendo facilitar el ingreso de roedores e insectos, lo cual puede controlarse llevando a cabo un control de plagas periódicamente y manteniendo limpio el lugar. Esta zona se divide en diferentes almacenes, los cuales deben tener la capacidad y condiciones de temperatura y humedad relativa requeridos para la conservación de los materiales, materia prima y productos. Cada uno debe contar con accesos exclusivos, para el adecuado control y disposición de los

insumos. Cabe señalar que cuando se almacenen productos inflamables, estos deberán estar separados de los demás artículos por medio de una pared contra fuego preferentemente.

### **3. PRODUCCIÓN GENERAL**

Las puertas de acceso, deben ser lo suficientemente amplias para introducir materiales y para el ingreso de personal y deben estar selladas al igual que las ventanas en caso de que hubiera. El tamaño del área debe relacionarse directamente con los requerimientos de producción. El sistema de control de fauna nociva debe ser más efectivo y estricto que en la zona de almacén. Solo debe ingresar personal que labore en el área y usando la indumentaria adecuada.

### **4. AREA GRIS**

Esta área es también conocida como área de pesado, mezclado y traslado. El ambiente debe ser controlado mediante manejadoras de aire, las cuales están equipadas con filtros HEPA (Filtros absolutos), capaces de remover el 99.97% de partículas mayores de 0.3micras. En esta área también se debe controlar la temperatura y la humedad, así como la contaminación microbiológica mediante el empleo de sanitizantes. El acceso del personal debe ser portando la indumentaria apropiada. Es en esta zona de la instalación, donde se recibe la materia prima para fabricar los productos y donde se prepara el material y equipo que va a ingresar al área blanca. La presión de aire en esta área de manufactura debe ser mayor que en las adyacentes para evitar la introducción de contaminantes.

### **5. AREA BLANCA**

Se conoce también como área de llenado aséptico y es la última zona de mayor control ambiental protegida por paredes. Este cuarto debe estar cerrado y completamente separado de otras áreas. El tamaño del cuarto se determina de acuerdo a la selección del equipo y a los requerimientos de producción, siendo el adecuado para un cómodo desempeño, pero no muy grande para evitar la acumulación de materiales que pudieran actuar como una fuente potencial de contaminación.

El ingreso de personal debe ser sólo a través de cámaras de presión y usando la indumentaria adecuada. El flujo de materiales debe ser controlado y adecuado.

En esta área se deben manejar presiones positivas para evitar la introducción de contaminantes. En la Fig. 3 se muestra mediante el uso de flechas, como la presión diferencial va de la zona más limpia a la menos limpia.

Se requiere de sistemas de manejo de aire validados para garantizar la limpieza del área.

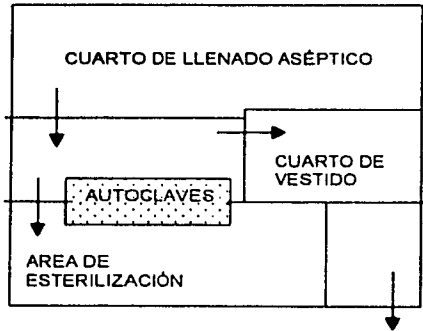


FIG. 3 Dirección de presurización

## 6. ESTACIÓN DE LLENADO

La máquina llenadora es conocida también como estación de llenado y es la zona que requiere el control ambiental más riguroso ya que el producto queda completamente expuesto al ambiente durante el proceso de llenado. La máquina llenadora se localiza dentro del área de llenado aséptico (área blanca).

El control ambiental en la estación de llenado se consigue mediante flujo laminar, siendo dicho flujo la última barrera contra la contaminación.

Además de las áreas antes citadas, existen otras, necesarias para el buen funcionamiento de la planta, entre las cuales destacan las áreas administrativas, control de calidad, mantenimiento, mezzanine (falso plafón) y servicios generales.

#### **AREAS ADMINISTRATIVAS**

Se debe contar con un área exclusiva de oficinas para la dirección, gerencia y supervisión. En algunas ocasiones el personal supervisor, cuenta con oficinas dentro de las áreas de producción, pero lo ideal es que permanezcan en un área completamente separada y contigua a ellas. Dicha separación es necesaria, para evitar cualquier tipo de contaminación proveniente del personal administrativo y de objetos de oficina, así como de visitantes y proveedores.

#### **CONTROL DE CALIDAD**

El laboratorio de control de calidad debe estar completamente separado del área de producción y de los almacenes, debe ser de dimensión adecuada y contar con las instalaciones y equipos necesarios para realizar pruebas y análisis. Debe contar con áreas especiales para reactivos, área de análisis, instrumentos de medición y microbiología debidamente separadas. El área de microbiología debe contar con las mismas condiciones de limpieza que el área de producción y su separación debe prevenir contaminación cruzada. El bioterio debe estar completamente separado de las áreas citadas para evitar el riesgo de contaminación por los animales. Otra área que debe encontrarse en la zona de control de calidad es el departamento de documentación.

#### **MANTENIMIENTO**

Esta área debe contar con una instalación amplia y con todo el equipo necesario para dar mantenimiento al equipo e instalaciones de la planta. Debe localizarse fuera de la planta, pero con acceso a ella, así como al cuarto de calderas y al mezzanine. La ubicación y el acceso deben ser adecuados para recibir artículos voluminosos. Otra de las funciones del departamento es disponer de los desechos generados.

## **FALSO PLAFÓN (MEZZANINE)**

Esta área se ubica en la parte superior de la planta. El mezzanine al igual que las paredes albergan instalaciones de servicios inherentes a las áreas de producción, tales como ductos de ventilación y líneas de energía eléctrica. La ubicación y diseño de tales instalaciones debe ser la adecuada de manera que se facilite el mantenimiento de las mismas. La extensión del falso plafón debe abarcar toda la planta, debido a la instalación de servicios a lo largo de todas las áreas de producción y debe estar perfectamente sellado para evitar contaminación proveniente del espacio superior a él. Todas las tuberías deberán estar debidamente identificadas en base a un código de colores y no deberán permanecer ocultas en esta zona.

## **SERVICIOS GENERALES**

Estos servicios incluyen la cafetería o comedor, el área de lockers, recursos humanos y consultorio médico entre otros. El comedor debe ser de dimensiones adecuadas de acuerdo al número de empleados y debe estar localizado completamente separado de la planta, pero cerca de ella para reducir el tiempo de traslado de un lugar a otro. Se debe llevar a cabo periódicamente un control de fauna nociva.

El área de lockers debe localizarse a un lado del área de producción y con acceso directo a ésta y no al exterior. Es en esta zona donde el personal cambia su ropa de calle por el uniforme de trabajo.

El área de personal o recursos humanos debe estar localizada en la entrada de la empresa, independiente del área de producción. Generalmente se encuentra en conjunto con las áreas administrativas y debe ser de acceso directo a proveedores y visitas en general.

El consultorio médico debe estar ubicado lo más cercano posible al área de producción.

## **5 FLUJO DE PERSONAL <sup>35,45</sup>**

En general, cuando se va a diseñar una planta farmacéutica, debe tomarse en cuenta el movimiento del personal en las diferentes áreas. El diseño debe ser tal, que se minimice y controle el tráfico de personal dentro y fuera de las áreas asépticas.

La distribución debe ser la adecuada, para evitar el flujo discontinuo y masivo en ciertas áreas, lo cual trae como consecuencia la disminución de la eficiencia de producción e incremento de los problemas de contaminación ambiental y seguridad de los productos.

El personal es la mayor fuente de contaminación debido al proceso de descamación de la piel y a la flora normal bacteriana que porta, es por ello que tienen que gozar de buena salud, estar libres de afecciones dermatológicas que pudieran aumentar la carga microbiana, ser pulcros, ordenados y confiables.

En la preparación de productos estériles se requiere de un mínimo de personal dentro del área, lo cual debe estar especificado en un procedimiento normalizado de operación. El personal debe recibir entrenamiento adecuado sobre los principios del procesamiento aséptico y técnicas a utilizar; es decir, debe estar debidamente calificado. Debido a la fuente potencial de contaminación por parte del personal, es importante seguir siempre un flujo lógico, para evitar contaminación. Resulta por tanto muy importante que el personal reciba entrenamiento de vestido y acceso a las diferentes áreas, de tal manera que sigan siempre un flujo lógico.

El personal debe contar con vías directas y bien definidas de entrada a la planta y a las áreas usuales de trabajo, lo cual generalmente es a través pasillos. El tráfico de operarios en las áreas donde se manejan sustancias controladas debe ser mínimo.

El acceso de visitantes y empleados ajenos a la planta, debe ser controlado y podrán visualizar los procesos de fabricación de productos parenterales única y exclusivamente a través de ventanas selladas.

El personal que labora en áreas asépticas deberá desplazarse del vestidor general de la planta al vestidor del área aséptica, en donde se despojará de su uniforme común y se colocará uno especialmente confeccionado para trabajar en estas áreas, a las cuales se entra a través de una esclusa con doble puerta.

Debido a que el uniforme es previamente esterilizado, es necesario seguir una adecuada técnica de vestido para evitar contaminación, además de seguir reglas estrictas de higiene, como es la limpieza del personal y el cepillado de las uñas antes del vestido.

El flujo del personal dentro del área aséptica debe ser tal, que se realice el mínimo de desplazamientos, evitando el cruce con los demás operarios y con el flujo de materiales. Ver figuras 4 y 5.

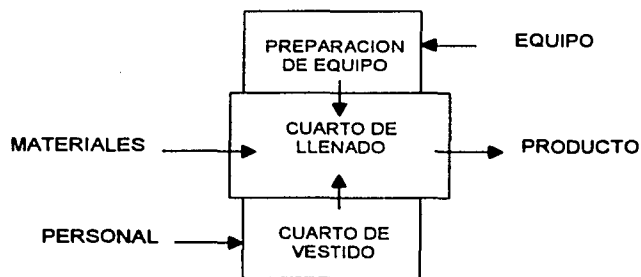


FIG. 4 Flujo en un área de llenado aséptico

Cuando exista más de una área de llenado, estas deben localizarse adyacentes, para utilizar de manera más eficiente un sólo cuarto de vestido, aunque en ocasiones el flujo puede ser más complicado. Algunas de las instalaciones modernas con más de un área de llenado, cuentan con cuartos de vestido por separado para prevenir la contaminación del personal que se está vistiendo



para entrar al área, por parte del personal que abandona el cuarto de llenado, ya que éste puede desprender una gran cantidad de partículas y células muertas acumuladas durante su actividad. Ver fig. 5.

Una vez que el personal se encuentra dentro del área, queda restringida su salida, así como el acceso a personas no autorizadas. Al concluir el proceso o al tener que salir del área en el turno de comida, el personal regresará al vestidor general a través del vestidor del área aséptica, en donde dejará los uniformes usados de tal forma que se evite la diseminación de contaminantes, especialmente si se han llenado polvos. Cabe señalar que para volver a ingresar al área se debe de usar otro uniforme estéril.

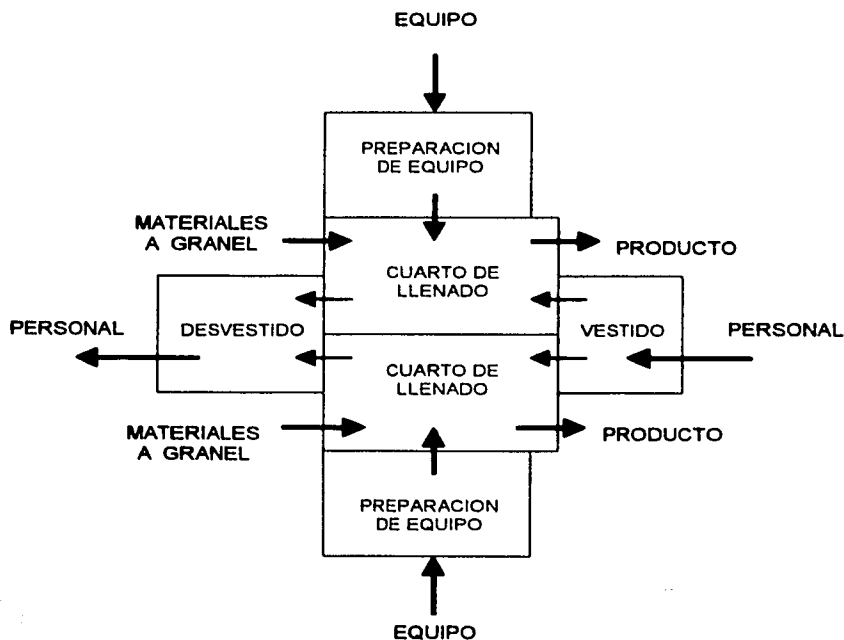


FIG. 5 Flujo en dos áreas de llenado

## **6 FLUJO DE MATERIALES** <sup>27,37,45</sup>

En el llenado de un producto estéril, es necesario el uso de distintos materiales y equipo, los cuales reciben un tratamiento específico antes de entrar al área aséptica, debiendo introducirse sólo aquellos que sirvan para efectuar el proceso del producto requerido. Cabe señalar que el equipo y materiales empleados en la fabricación del mismo, deben también ser preparados adecuadamente antes de su uso.

Contiguas al área de llenado, deben distribuirse las áreas de preparación de equipo, preparación o fabricación del producto, cuarto de vestido y acumulación de material y/o cuarentena, de esta manera el flujo de materiales sigue un orden lógico en el proceso. Ver Fig. 4

El diseño de instalación de la figura 5 puede resultar costoso, pero presenta la ventaja de reducir los problemas de control ambiental al eliminar flujos encontrados y por tanto la contaminación cruzada. Otro tipo de diseño es el tridimensional, en el cual el área de fabricación se ubica en la parte superior del área aséptica, lo cual resulta una gran ventaja cuando se tienen problemas para bombear el producto. Dentro de las desventajas de este último destacan el costo elevado y la falta de comunicación visual entre las áreas.

Dentro de los productos que fluyen hacia adentro y afuera del área aséptica se encuentran el equipo y/o envases primarios, los materiales a granel y finalmente el producto terminado. En la figura 6 se muestra otro ejemplo del flujo de materiales de un proceso.

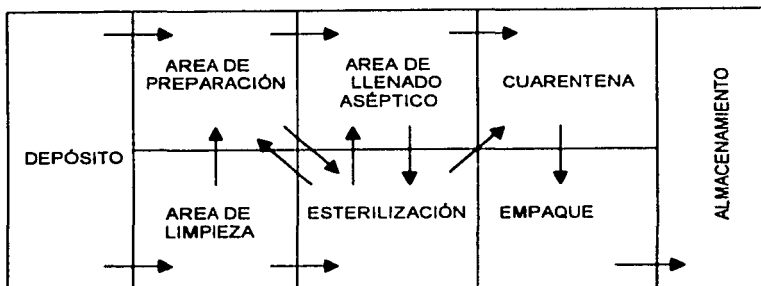


FIG. 6 Diagrama de flujo de materiales en las áreas

Como se muestra en la figura 6, los ingredientes de la fórmula fluyen hacia el área de preparación o fabricación, mientras que el equipo y los envases fluyen al área de limpieza y esterilización. El producto a granel fluye hacia el área de llenado aséptico y una vez envasado pasa al área de cuarentena donde permanece hasta que se realizan todas las pruebas pertinentes. Una vez aprobado, el producto fluye al área de acondicionado y posteriormente al almacén de producto terminado. En caso de que el producto requiera esterilización terminal, éste pasa primero, del área de llenado al área de esterilización.

#### EQUIPO Y/O ENVASES PRIMARIOS

Los envases primarios deben recibir un tratamiento previo antes de entrar al área aséptica. Estos envases deben ser desempacados, lavados, sometidos a un proceso de esterilización y despirogenización cuando se requiera. Cabe señalar que en algunos casos el proveedor proporciona envases esterilizados.

El ingreso de equipo o material estéril a esta área debe ser a través de homas y/o autoclaves con doble puerta o en su defecto a través de pasos de materiales, utilizando en ambos casos cajas de acero inoxidable estériles u otro material adecuado.

Los recipientes o envolturas de accesorios, equipo o envases esterilizados deberán abrirse hasta el momento de su uso, dándoles un periodo máximo de espera de 48 horas y debiendo esterilizarse nuevamente si no son abiertos en este lapso de tiempo. Los contenedores de plástico, deberán ser lavados y esterilizados con vapor u óxido de etileno; o bien, debidamente sanitizados y seguirán el mismo flujo que los envases. Cabe señalar que no se permite la presencia de cajas de cartón u otros materiales que desprendan partículas al ambiente aséptico.

#### **PRODUCTOS A GRANEL**

Los productos o materiales a granel deberán estar debidamente identificados antes de introducirlos a las áreas de operación. El ingreso de estos puede ser a través de diferentes vías, de acuerdo al producto a procesar.

Los materiales sólidos estériles deben introducirse a través de un paso de materiales, no sin antes limpiar y sanitizar el envase que los contiene. Cuando se trata de productos líquidos a granel que no puedan esterilizarse de manera terminal, estos se esterilizan por filtración e ingresan al área de llenado a través de la parte distal del filtro, la cual tiene salida al cuarto de llenado. El producto es entonces recibido en recipientes estériles o es directamente suministrado a la máquina llenadora. Cuando no se cuente con este sistema de alimentación, el producto puede recibirse en recipientes estériles adecuados, generalmente de vidrio e introducirse al área a través de un paso de materiales. Cabe señalar que la naturaleza del producto, determina si puede o no recibir esterilización terminal.

#### **PRODUCTO TERMINADO**

Este deberá ser debidamente identificado y abandonar el área aséptica siguiendo un flujo adecuado y a la brevedad posible para evitar la acumulación de material.

### **7 CLASIFICACIÓN DE ÁREAS <sup>3,27,39</sup>**

Las áreas asépticas donde se elaboran productos estériles, deben mantenerse con un estándar apropiado de limpieza, para minimizar los riesgos de contaminación microbiana o por partículas del

producto o de los materiales que se estén manejando. El aire abastecido a estas áreas debe pasar a través de filtros de alta eficiencia.

Para la fabricación de productos estériles las áreas asépticas se clasifican de acuerdo a las características requeridas de aire, en áreas grado A, B, C y D, a las cuales corresponde un número máximo de partículas viables y no viables. Ver tabla 1.

El Estándar Federal de los Estados Unidos (Federal Standar 209E) establecía que para una Clase 100 corresponden los grados A y B, para la Clase 10 000 el grado C y para la Clase 100 000 el grado D. Lo cual quiere decir que en un área Clase 100 se permiten como máximo 100 partículas de 0.5 a 5 micras por pie cúbico y así sucesivamente en las clases 10 000 y 100 000. Recientemente este Estándar Federal fue cancelado y suplantado por los Estándares Internacionales para cuartos limpios y ambientes controlados, ISO 14644-1 parte 1: "Classification or air cleanlines" e ISO14644-2 parte 2: Specifications for testing and monitoring to prove continued compliance with ISO 14644-1. Así las cosas, la designación de las clases de limpieza y las cantidades han cambiado.

GRADO	NÚMERO MÁXIMO DE PARTÍCULAS PERMITIDAS				NÚMERO MÁXIMO DE MICROORGANISMOS VIABLES PERMITIDOS	
	por m <sup>3</sup>		por ft <sup>3</sup>		m <sup>3</sup>	por ft <sup>3</sup>
	0.5 – 5 µm	>5µm	0.5 – 5 µm	>5µm		
<b>A</b>	3 500	Ninguna	100	0	Menos de 1	0
<b>B</b>	3 500	Ninguna	100	0		5
<b>C</b>	350 000	2 000	10 000	56	100	3
<b>D</b>	3 500 000	20 000	100 000	566	500	14

Tabla 1 Clasificación del sistema de aire para la fabricación de productos estériles

Las condiciones de partículas viables y no viables indicadas en la tabla 1, deben mantenerse en la zona que rodea al producto expuesto al ambiente. Dichas condiciones deben mantenerse aún sin personal presente y si por alguna razón los estándares disminuyeran, deben recuperarse tras un corto periodo de limpieza. Cabe señalar que la tecnología de aislamiento garantiza en alto grado la esterilidad de los productos, debido a que la intervención humana es mínima.

### **CLASIFICACIÓN DE ZONAS DENTRO DEL ÁREA ASÉPTICA**

- 1.- Zona muy crítica. En la cual se mantienen viales abiertos y se efectúa el llenado
- 2.- Zonas críticas. Zonas circunvecinas del área de llenado
- 3.- Zonas lejanas y separadas del área de llenado (recepción de materiales y esclusas)

### **ACTIVIDADES REALIZADAS EN LAS ÁREAS**

- 1) El manejo de materias primas y la preparación de soluciones de productos que requieran o no esterilización terminal deberá realizarse en un ambiente grado C (Clase 10, 000) ; o bien, en un ambiente grado D (Clase 100 000) si se toman medidas adicionales para minimizar la contaminación, como es el uso de recipientes cerrados. (ver correspondencia de áreas en la Tabla 2)
- 2) Los productos parenterales deben llenarse en una estación de trabajo grado A (Clase 100) en un ambiente grado C (Clase 10,000)
- 3) Los ungüentos, cremas, suspensiones y emulsiones, así como el llenado de envases deben realizarse en un área clase 10,000 antes de la esterilización final.
- 4) Todo el proceso de los productos que se elaboran a partir de materias primas estériles deberá realizarse en una estación de trabajo grado A en un ambiente grado C.

## **CAPÍTULO 3**

### **CALIFICACIÓN DE ÁREA ASÉPTICA**

---

#### **1 AREA ASÉPTICA <sup>35</sup>**

De acuerdo a la NOM 059 un área aséptica se define como:

"Zona comprendida dentro de una área limpia, diseñada y construida para minimizar la contaminación por partículas viables y no viables, manteniéndola dentro de límites preestablecidos."

#### **2 CALIFICACIÓN <sup>4,6,9,35,45,48,49,50,51,52,53,54,55,56,57</sup>**

Puede definirse de diferentes formas:

1. Evaluación de las características de los elementos del proceso
2. Realización de pruebas que determinan si un componente de un proceso de manufactura posee los atributos requeridos para obtener un producto de calidad específica.
3. Verificación documentada de que todos los aspectos clave de un equipo instalado cumplen con las especificaciones o que un sistema funciona de acuerdo a lo previsto.
4. Revisión y prueba del equipo, sistemas o subsistemas involucrados en un proceso para asegurar su capacidad de uso.
5. Operación cuyo propósito es probar que tanto los materiales, equipo o personal, cumplen con las condiciones requeridas y proporcionan resultados esperados.

Para este caso en particular podemos definirla como: "Parte del programa de validación en donde el control de los parámetros físicos y microbiológicos de una instalación son evaluados para demostrar su eficiencia en procesos asépticos."

## **2.1 IMPORTANCIA DE LA CALIFICACIÓN**

La Calificación del área aséptica resulta esencial en el proceso de llenado y manipulación de productos estériles, debido a que el producto queda expuesto al ambiente por unos momentos. Por tal motivo es necesario que el área se encuentre diseñada de tal manera que cumpla con las especificaciones predeterminadas, para minimizar la potencial contaminación microbiana, asegurando de tal manera que los productos y materiales mantengan su esterilidad. El diseño de la instalación, es por tanto un factor esencial para un llenado aséptico exitoso.

Cabe señalar que para que esto se cumpla es necesario el adecuado entrenamiento del personal. Deben existir procedimientos estandarizados debidamente calificados, que especifiquen paso a paso de manera sencilla las técnicas de limpieza y sanitización de superficies de área y equipos, esterilización de materiales y operación dentro de la misma; así como, de preparación y rotación de sanitizantes. Otro factor importante es la manera en que se deben manipular dichos materiales antes y después de introducirlos al área.

La calificación y la validación juegan un papel sumamente importante en la industria ya que de esta manera se garantiza en alto grado la calidad de los productos. Mediante la calificación se generan los datos necesarios que aseguren que el equipo, instalaciones y sistemas cumplen con las especificaciones de diseño y que operan de manera consistente y reproducible.

## **2.2 TIPOS DE CALIFICACIÓN**

**CALIFICACIÓN DE DISEÑO.** Es la verificación documentada de que una instalación cumple con los requisitos de diseño y construcción especificados.

**CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN.** Es la verificación documentada de que equipos o sistemas están instalados y diseñados conforme a los requisitos y recomendaciones del fabricante.

**CALIFICACIÓN OPERACIONAL.** Es la verificación documentada de que equipos o sistemas funcionan conforme a los rangos de operación especificados.



**CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO.** Es la verificación documentada de que equipos o sistemas funcionan de manera eficiente y reproducible bajo ciertas condiciones, incluyendo pruebas de reto.

La calificación de un área aséptica implica a todos estos tipos de calificación. La documentación de calificación operacional y de instalación asegura que el equipo y las áreas se ajustan a las especificaciones de diseño y que todos los instrumentos de medición están calibrados.

Algunas de las actividades que requieren de Calificación de Instalación y Operación son aquellas relacionadas con los sistemas de calentamiento, enfriamiento y aire acondicionado HVAC (Prueba de DOP, cuantificación de partículas a través de filtros HEPA, velocidad de aire, Temperatura, Humedad Relativa, patrones de flujo de aire, cambios de aire por hora, presión diferencial).

La calificación de instalación y operación dan la pauta para llevar a cabo la calificación de desempeño, la cual está diseñada para demostrar que los sistemas HVAC son capaces de proporcionar consistentemente ambientes apropiados para los procesos que ahí se realizan.

Cabe señalar que la calificación y validación requieren de la colaboración de diferentes departamentos y profesionales de control de calidad, validación, mantenimiento, producción, contratistas y subcontratistas, entre otros.

Lo siguiente debe ser considerado como guía en la calificación de un área aséptica: Plan maestro de validación, Calificación de diseño, Calificación de construcción, Calificación de la instalación, Calificación operacional, Calificación de desempeño, Análisis, Muestreo en condiciones estáticas y dinámicas, Programa de monitoreo ambiental y Certificación del cuarto limpio.

### **2.3 PROTOCOLO DE CALIFICACIÓN**

Para llevar a cabo una calificación y/o validación es necesario contar con un protocolo debidamente escrito y aprobado por el comité de validación. Un protocolo es aquel documento que

contiene una descripción detallada de cómo se va a evaluar un equipo, instalación o proceso y proporciona evidencia objetiva de que funcionan de acuerdo a su diseño y de manera reproducible.

Un protocolo de calificación típico debe contener:

- **Objetivo**
- **Alcance**
- **Responsabilidades**
- **Definiciones**
- **Descripción del equipo (Lista del equipo requerido para la calificación de instalación y operación)**
- **Criterios de Calificación (Metodología y ejecución de la calificación de instalación, operación y desempeño.)**
- **Criterios de aceptación**
- **Procedimientos estándar de operación**
- **Reporte de resultados**
- **Control de Cambios**
- **Adjuntar gráficos, diagramas, calendario de mantenimiento preventivo, reportes de desviaciones, certificados de calibración de instrumentos.**

Para el buen entendimiento de este capítulo es necesario mencionar el significado e importancia de la validación.

### **3 VALIDACIÓN** 35,46,52,53,54,56,57,58,59,60,61,62,63

"Es la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones y los atributos de calidad establecidos".

En el CFR 21 parte 820 del sistema de calidad de FDA actualmente se define como:

**"Establecimiento mediante evidencia objetiva que un proceso produce consistentemente un producto o resultado que cumple con sus especificaciones predeterminadas."**

Otras definiciones igualmente aceptadas son:

1. Programa documentado que ofrece un alto grado de aseguramiento que un proceso específico producirá consistentemente un producto que cumpla con sus especificaciones predeterminadas y atributos de calidad.
2. Programa formal que demuestra que un producto específico puede ser producido confiablemente por el proceso diseñado.

### **3.1 TIPOS DE VALIDACIÓN**

Existen diferentes tipos de validación, entre ellos destacan la validación prospectiva, retrospectiva, concurrente y la revalidación.

#### **VALIDACIÓN PROSPECTIVA**

**"Ejecución y documentación de un protocolo de prueba aprobado previamente, cuya finalidad es demostrar que un proceso opera según lo previsto, antes de autorizar la distribución del producto"**

La validación prospectiva se lleva a cabo cuando se desarrolla cualquier producto nuevo, en procesos de esterilización y en procesos de productos estériles en general. Esta validación se completa antes de la distribución y venta del medicamento e incluye: descripción del proceso, fases críticas, listado de equipos, instrumentos e instalaciones, especificaciones, criterios de aceptación, métodos analíticos, plan de muestreo, registro y evaluación de resultados, entre otras cosas. Durante la validación prospectiva se deben realizar al menos 3 lotes consecutivos para asegurar la repetibilidad del proceso.

### **VALIDACIÓN RETROSPECTIVA**

**"Es el establecimiento de evidencia documentada de que un proceso hace lo que se propone hacer, basada en la revisión y análisis de información histórica".**

Se realiza cuando un producto se ha producido y distribuido de igual forma durante mucho tiempo y cuyo proceso no ha sido validado. En estos casos se cuenta con una gran cantidad de datos históricos que son de utilidad para validar procesos de formas farmacéuticas no estériles. No aplica cuando se han producido cambios recientes en el proceso. Los lotes seleccionados serán representativos de todos los lotes fabricados durante el periodo de revisión, incluyendo los que no cumplan con las especificaciones y su número será suficiente para demostrar la regularidad del proceso. La validación retrospectiva se lleva a cabo de la siguiente manera:

1. Recolectar información de 10 a 30 lotes consecutivos (los últimos fabricados preferentemente), incluyendo los resultados analíticos y de proceso
2. Organizar los datos de manera cronológica, usando un formato específico
3. Someter todos los datos a una evaluación estadística
4. Establecer conclusiones sobre el estado de control del proceso
5. Elaborar el reporte correspondiente

### **VALIDACIÓN CONCURRENTE**

**"Es el establecimiento de evidencia documentada de que un proceso hace lo que se propone hacer, basada en la información generada durante la actual implementación del proceso"**

Se aplica a productos o procesos que se realizan esporádicamente, en el caso de maquinas o cuando los lotes son muy pequeños. Esta validación provee información sobre el estado de control del proceso, mediante el seguimiento de los pasos críticos en el mismo. Las exigencias de documentación son las mismas especificadas para la validación prospectiva.

## **REVALIDACIÓN**

"Es la repetición parcial o total de la validación de un proceso para asegurar que mantiene su estado validado".

Este tipo de validación se realiza en los procesos ya validados y aplica cuando se presentan cambios que afecten de manera significativa la calidad del producto, o aún cuando no ocurran. Cuando ocurren cambios, se realiza para garantizar que estos no afectan negativamente a las características del proceso, ni a la calidad del producto y cuando no ocurren dichos cambios, se lleva a cabo periódicamente para confirmar que los procesos mantienen su validez.

Cabe mencionar que mediante el sistema de control de cambios se evalúa el impacto de los cambios propuestos y en base a esta evaluación se determina si el proceso requiere revalidación total o si es suficiente una revalidación parcial.

Dentro de los cambios que se pueden presentar destacan:

1. Tamaño de lote
2. Cambio en la formulación
3. Modificaciones al procedimiento de manufactura
4. Equipo nuevo
5. Cambio de instalaciones
6. Cambio en los parámetros críticos del proceso
7. Cambio en las especificaciones del producto

### **3.2 ELEMENTOS DE LA VALIDACIÓN**

Estos elementos pueden variar de acuerdo al proceso, pero deben considerarse básicamente los siguientes:

1. Metodologías analíticas validadas
2. Calibración de instrumentos

3. **Sistemas críticos**
4. **Personal**
5. **Materia prima y material de empaque**
6. **Equipo**
7. **Instalaciones**
8. **Etapas de fabricación**
9. **Diseño del producto**
10. **Procedimientos de limpieza**

Un proceso se considera válido mediante la calificación de todos y cada uno de los elementos involucrados, así como del control que se tenga de cada uno de ellos durante el proceso. Sólo de esta manera se puede garantizar la aceptabilidad de un lote. Así las cosas, mientras la validación de procesos aplica a todo un proceso e implica por consiguiente a todos los elementos involucrados; la calificación aplica específicamente a dichos elementos tales como, sistemas, equipos, edificios y personal. Cabe señalar que la validación de procesos involucra de la misma manera a proveedores y subcontratistas.

### **3.3 PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN**

Para determinar qué, cuando y donde se va a validar, se requiere tener un amplio conocimiento del producto y/o proceso en cuestión, así como de los problemas que pueden presentarse en las áreas, posibles riesgos y costos entre otros aspectos. Dicho análisis comienza con la elaboración de un plan maestro de validación, el cual es un programa documentado que describe la política, filosofía, estrategia y metodología a seguir en una validación y las tareas específicas de calificación dentro del proyecto. Definirá la terminología empleada, describirá la instalación y el proceso de manufactura, contendrá una introducción del programa de validación, responsabilidades, equipo e identificará los elementos que requieran calificación o validación.

### **3.4 BENEFICIOS DE LA VALIDACIÓN**

- 1. Reducción de rechazos y reprocesos.** Cuando los procesos se encuentran bajo control mediante un programa de validación, la uniformidad de la producción se hace más consistente y por consiguiente se presentan menos rechazos.
- 2. Reducción de tiempo de proceso.** La validación garantiza que un proceso determinado se realiza en el tiempo estimado o menor, impidiendo su prolongación debido a paros por fallas o reprocesos.
- 3. Menos quejas.** Las empresas que validan sus procesos, reciben menos quejas de sus productos comerciales.
- 4. Reducir análisis.** La información disponible del estudio de validación es de utilidad para ver la posibilidad de reducir o eliminar por completo algún análisis de producto intermedio o producto terminado, en las cuales se ha confirmado previamente una variación mínima.
- 5. Investigaciones rápidas.** Los datos disponibles permiten hacer juicios acertados y confiables en menos tiempo.
- 6. Fácil escalamiento.** La validación de un proceso en desarrollo proporciona una visión más clara acerca de las actividades que se realizarán a gran escala.
- 7. Fácil mantenimiento.** La información detallada disponible en el reporte de calificación puede acelerar la reparación de equipos, áreas o sistemas, facilitando el mantenimiento correctivo o preventivo.
- 8. Mejorar conocimientos del personal.** Las actividades de validación incrementan el conocimiento de las características del proceso a todos los niveles de la organización.
- 9. Automatización más rápida.** El contar con un proceso conocido a través de la validación, hace menos difícil su automatización.
- 10. Optimizar procesos.** Mediante la validación es posible mejorar un proceso al menor costo, hasta un máximo de eficiencia manteniendo los estándares de calidad.
- 11. Reducir costos.** El contar con procesos validados produce pocos rechazos y reprocesos, tiempos de producción más cortos y disminución de paros por fallas en los mismos. Todo esto en conjunto se traduce en reducción de costos, más aún cuando se trata de productos

parenterales, los cuales requieren de materiales y procesos costosos. Cabe señalar que la calificación de personal es esencial para este objetivo.

### 3.5 ¿PORQUÉ VALIDAR?

Con objeto de llevar a cabo adecuadamente un proceso de validación, es importante entender porque se realiza y cual es su importancia. Existen algunas razones principales por las cuales una industria farmacéutica valida sus procesos:

1. Para cumplir con las regulaciones gubernamentales
2. Asegurar la calidad de sus productos
3. Reducir costos

#### 1. *Regulaciones gubernamentales*

Los procesos productivos deben cumplir con estándares internacionales de Buenas Prácticas de Fabricación (BPF). La validación es un elemento indispensable para el cumplimiento de las mismas. En años recientes la FDA ha incrementado sus expectativas de implementar la validación a todos los productos (estériles y no estériles), a los sistemas y procedimientos empleados.

En las Regulaciones del Código Federal No. 21 de FDA parte 211, se establecen los requisitos de diseño que deben cumplir las instalaciones. El cumplimiento de ellas debe evaluarse y verificarse mediante un programa de validación.

En México la NOM-059-SSA1-1993, establece los requisitos mínimos necesarios para el proceso de los medicamentos. Es de observancia obligatoria y parcialmente equivalente a los estándares internacionales.

Como ya se mencionó anteriormente, entre las regulaciones internacionales figuran las implementadas por FDA y además, las relativas a las buenas prácticas de fabricación de la



Comunidad Europea, las cuales se actualizaron en 1997. Entre los años 1997 y 1998 la sociedad internacional de ingenieros farmacéuticos (ISPE por sus siglas en inglés), publicó los libros llamados "baseline", en los cuales se mencionan los lineamientos a seguir en instalaciones farmacéuticas. En el volumen 3 de dicha serie se trata el tema de "Instalaciones para fabricación de productos estériles" (publicado en enero de 1999). Previamente se publicaron 2 volúmenes referentes a "Productos químicos farmacéuticos a granel" y "Dosificación de formas sólidas orales", publicados en junio de 1996 y febrero de 1998 respectivamente, debido a que carecían de norma de aplicación, no así para los productos estériles, los cuales ya habían sido publicados por FDA desde 1987 (Fármacos estériles producidos por procesos asépticos, reimpresa en 1991). Cabe señalar que estas normas incorporan comentarios de FDA.

En el dominio internacional, el Comité de la ISO decidió redactar una serie de normas sobre cuartos limpios, cuyo propósito es establecer los criterios que deben regir en ellos, sin hacer referencia específica a un campo particular. A continuación se mencionan dichas normas:

- ISO 14644-1 Clasificación de limpieza del aire
- ISO 14644-2 Especificaciones de prueba y control para demostrar el continuo cumplimiento de la ISO 14644-1.
- ISO 14644-3 Metrología y método de prueba.
- ISO 14644-4 Diseño, construcción y puesta en marcha.
- ISO 14644-5 Operaciones.
- ISO 14644-6 Términos y definiciones.
- ISO 14644-7 Dispositivos de limpieza.

## **2. Aseguramiento de Calidad**

Los requerimientos y guías de la FDA establecen que el muestreo y el análisis del producto terminado no garantizan por si solos la calidad del producto. Esto obedece al

hecho de que existen atributos difíciles de medir en un producto terminado. Las pruebas de esterilidad y la inspección de partículas, entre otras pruebas, no garantizan que cada unidad del lote cumple con las especificaciones.

En algunas ocasiones no se cuenta con suficientes datos estadísticos, que garanticen que cada unidad de un lote cumple con las especificaciones, llegando por consiguiente, a una conclusión errónea acerca de un lote completo con respecto a ciertas propiedades. En el caso de productos estériles por ejemplo, se debe validar el proceso de esterilización empleado, ya que no basta con realizar pruebas de esterilidad.

Las Buenas Prácticas de Fabricación establecen que deben validarse los procesos para asegurar la calidad de los productos farmacéuticos y contar con procedimientos en general para tal fin. La validación de procesos es parte esencial de un programa de aseguramiento de calidad y fundamental para una operación eficiente.

### *3. Reducir Costos*

El principal objetivo de cualquier industria farmacéutica es sin lugar a dudas, asegurar la calidad de sus productos al menor costo.

La experiencia y el sentido común indican que un proceso validado es más eficiente y más costeable. La industria farmacéutica emplea materiales, instalaciones y equipos sofisticados, los cuales resultan más costosos cuando se fabrican parenterales. El uso eficiente de estos recursos es necesario para el éxito de la industria farmacéutica.

El costo de las fallas en el producto (rechazos, reprocesos, quejas, etc.) representa una parte significativa del costo total de la producción. Con la validación, se trata de controlar y estudiar detalladamente el proceso de manufactura, como consecuencia la productividad se incrementará y los costos por fallas serán reducidos.

Como consecuencia de un proceso validado, se pueden reducir las pruebas de un producto farmacéutico; o bien, reducir las pruebas de materias primas con la premisa de que los proveedores cuentan con procesos y métodos validados. Todo esto representa un ahorro para la compañía.

Otro de los factores que hay que considerar es la calificación del personal, ya que la falta de entrenamiento puede redundar en productos de mala calidad, el subsecuente rechazo del lote y pérdidas económicas muy grandes cuando no es posible el reproceso.

#### **4 CALIBRACIÓN <sup>35,64</sup>**

En la validación de un proceso, la calibración al igual que la calificación es esencial y se define como:

1. El conjunto de operaciones que tiene por finalidad determinar los errores de un instrumento para medir y de ser necesario, otras características metrológicas.
2. Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

#### **5 CONTROL AMBIENTAL DEL ÁREA ASÉPTICA**

##### **5.1 UNIDADES MANEJADORAS DE AIRE <sup>35,36,45,65,66,67,68,69,70,82</sup>**

En la calificación de un área aséptica deben considerarse ciertos factores tales como el flujo de material y personal, la distribución, el diseño y espacio adecuados del área, iluminación apropiada y por supuesto los controles ambientales. En estas áreas los niveles de limpieza del aire y presión

diferencial, entre otros parámetros, deben mantenerse dentro de límites establecidos, lo cual se logra mediante el adecuado manejo, filtración y acondicionamiento del aire.

El aire exterior contiene una gran cantidad de suciedad y microorganismos, por lo cual debe recibir un tratamiento previo antes de ingresar al área aséptica. Dicho tratamiento se realiza en Unidades Manejadoras de Aire (UMA), en las cuales se lleva a cabo el control de temperatura, humedad, presión diferencial, ventilación, filtración y circulación del mismo, manteniendo de esta manera los niveles apropiados de tales parámetros dentro del área. Cabe señalar que las unidades manejadoras de aire forman parte del Sistema de Calefacción, Ventilación y Aire Acondicionado (HVAC por sus siglas en inglés).

Uno de los tratamientos para purificar el aire exterior, consiste en filtrarlo a través de un prefiltro (de lana de vidrio, tela o plástico desmenuzado) , de esta manera se retienen las partículas grandes. Luego se pasa a través de un precipitador electrostático el cual induce carga eléctrica a las partículas y las elimina por atracción hacia placas con carga opuesta. Las unidades manejadoras contienen además, serpentines de enfriamiento y calentamiento, así como humidificadores, para acondicionar el aire. El aire pasa finalmente a través de filtros de alta eficiencia (HEPA) antes de ingresar al área a través de difusores en el techo.

Los filtros HEPA al igual que los ULPA son filtros de aire de elevada eficiencia para partículas submicrónicas y se utilizan principalmente en las industrias microelectrónicas y farmacéuticas, El propósito de tales filtros es prevenir la contaminación del ambiente interno, protegiendo de esta manera al producto y al personal. Los filtros HEPA remueven partículas de más de 0.3 micras con una eficiencia mínima de 99.97%, mientras que los filtros ULPA tienen una eficiencia de 99.9995% para la remoción de partículas de más de 0.12 micras. El uso de estos filtros garantiza la eficiente separación de partículas no viables que actúan como vectores de microorganismos. Ambos se construyen y funcionan de la misma manera, difiriendo únicamente en el tamaño del poro del medio filtrante. Estos filtros se elaboran principalmente acetato de celulosa sobre placas de

aluminio o de papel de microfibras de vidrio en forma plisada o plegada y su elección dependerá en gran medida de las características y/o requerimientos del proceso.

La unidad manejadora cuenta además, con un sistema de ventilación, el cual renueva permanentemente el aire de recirculación mediante la entrada de aire exterior y de esta manera evita estancamientos. Es importante mencionar que la manejadora circula el aire ya filtrado que sale de las áreas hacia un compartimiento denominado pleno de mezcla, cuya función es precisamente, mezclar el aire de retorno con el aire exterior, logrando de esta manera aumentar la vida media de los filtros, ya que no todo el aire que se maneja es sucio. Cabe señalar la importancia de contar con alarmas para detectar oportunamente fallas en el sistema de aire e implementar medidas necesarias.

## **5.2 FLUJO DE AIRE LAMINAR** <sup>39,46,71,72.76</sup>

Es aquel flujo de aire que se mueve con una velocidad uniforme a lo largo de líneas de flujo paralelas. Este tipo de aire es suministrado a través de filtros de alta eficiencia, por lo cual es esencialmente limpio y se usa cuando se requiere disminuir la concentración de partículas viables y no viables suspendidas en el aire.

Mediante el flujo de aire laminar es posible mantener el control ambiental requerido en las áreas asépticas ya que este realiza un barrido constante del espacio confinado. Lo anterior es posible ya que toda la masa de aire se mueve con una velocidad uniforme a lo largo de líneas paralelas a partir de un filtro HEPA, así las cosas, baña todo el espacio con aire muy limpio, adoptando la forma de los objetos que encuentra a su paso y arrastrado los contaminantes. El patrón de flujo en un área crítica aséptica es unidireccional (en una dirección) y puede ser en forma vertical u horizontal. Ver FIG. 1

Este tipo de flujo puede estar destinado a un área completa o a una zona de trabajo limitada, como son las máquinas de llenado. La selección de la configuración del flujo de aire (unidireccional)

debe basarse en los requisitos de limpieza del área y la elección de la dirección del flujo dependerá de la operación a realizar y de los productos que se manejen y de esta manera ofrecer protección al producto o al personal según sea el caso. El flujo de aire laminar unidireccional satisface los estándares para un área crítica aséptica, mientras que las áreas asépticas generalmente no lo requieren.

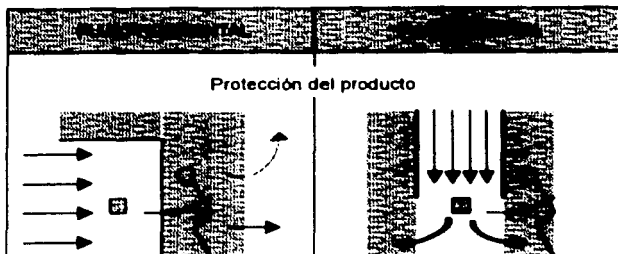


FIG. 1 Concepto de control de la contaminación

Los procesos de llenado aséptico se llevan a cabo bajo flujo vertical unidireccional. Las máquinas llenadoras modernas cuentan con difusores de flujo integrado y con barreras acrílicas para evitar la perturbación del flujo laminar.

El flujo vertical es aconsejable para los procesos de llenado en general y también en casos que se manipulen materiales de alto riesgo, tales como biológicos y oncológicos, entre otros. Para la realización de pruebas de esterilidad puede emplearse el flujo de aire horizontal, ya que presenta menos riesgo de que el movimiento del aire transporte microorganismos desde el operador hacia la zona de prueba, pero presenta la desventaja de transportar cualquier material generado en la estación de trabajo hacia el operador o hacia el área, por tal motivo se recomienda el flujo vertical para la realización de tales pruebas. Algunos laboratorios optan por la tecnología de aislamiento para realizar pruebas de esterilidad, la cual presenta la ventaja de reducir los falsos positivos, además de proteger al operador y al producto.

En las áreas asépticas el equipo de llenado debe ubicarse apropiadamente para evitar perturbaciones del flujo de aire y los movimientos del personal deben ser lentos a fin de no producir turbulencias, debido a que los movimientos bruscos rompen la laminaridad del flujo, generando contaminación dentro del área. Ver FIG. 2

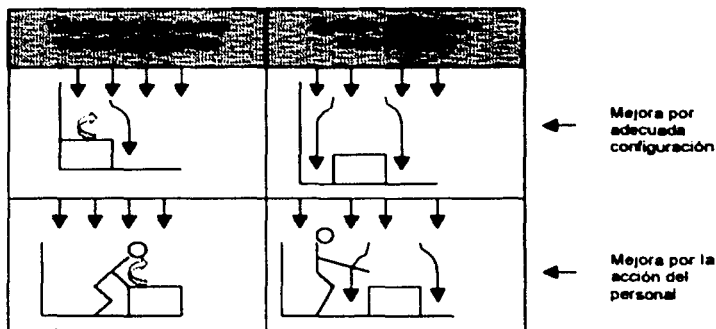


FIG. 2 Influencia del personal y los objetos sobre el flujo de aire unidireccional

### 5.3 PARÁMETROS A EVALUAR EN UN ÁREA ASÉPTICA 35, 39, 40, 41, 42, 43, 44, 45, 46, 71, 72, 73, 74, 75

Dentro de los controles ambientales destacan varios parámetros que deben evaluarse para cumplir con los requisitos de clasificación de un área. Dichos parámetros son físicos y microbiológicos.

#### 5.3.1 PARÁMETROS FÍSICOS

- a) Velocidad de flujo de aire
- b) Cambios de aire por hora
- c) Presión Diferencial
- d) Temperatura
- e) Humedad Relativa
- f) Partículas no viables

### **a) Velocidad de flujo de aire**

La velocidad del flujo de aire debe ser la suficiente para eliminar partículas grandes antes de que se depositen en las superficies. Hay que tomar en cuenta que esta debe ser la apropiada, ya que cuando la velocidad del flujo es demasiado baja no se logra un barrido adecuado de las superficies y cuando es demasiado alta se producen turbulencias, generando contaminación dentro del área. La velocidad de flujo de aire recomendada en un área crítica aséptica bajo flujo unidireccional es de 27 m/min  $\pm 20\%$  sin distinción entre flujo horizontal o vertical.

### **b) Cambios de aire por hora**

Para mantener la limpieza del aire en un área aséptica es necesario renovar el volumen de aire varias veces por hora. De esta manera aumenta la calidad ambiental requerida. Esto se logra mediante la ventilación, la cual consiste en introducir aire del exterior, para renovar en proporciones adecuadas el aire de recirculación del sistema a fin de lograr un adecuado nivel de pureza y también garantiza que los cambios ocurran constantemente. Los conductos de entrada de aire deben localizarse lejos de baños, cocinas, u otras fuentes de contaminación y a más de 1 metro sobre el nivel del piso como mínimo. El aire podrá regularse mediante persianas manuales o automáticas.

Los cambios de aire dentro del área deben ocurrir con suficiente frecuencia para diluir hasta una concentración aceptable la contaminación producida en ella. De esta manera se garantiza que el aire renovado sea limpio, fresco y que el oxígeno permanezca balanceado con el óxido de carbono (anhídrido carbónico), el cual es un producto del proceso respiratorio; además, se evita que se produzcan viciamientos y olores. Cabe señalar que la adecuada distribución del aire y el barrido que ofrece el flujo laminar, evitan zonas muertas en las cuales no existe una correcta renovación del aire.

Los cambios de aire se establecen de acuerdo al nivel de limpieza requerido en un área y están relacionados con la dimensión de la sala, los equipos y personal presentes en ella. Así las cosas,



para un cuarto limpio con flujo de aire turbulento, 10 cambios de aire por hora serían suficientes. Sin embargo, para alcanzar los grados de aire B, C y D, se requiere de más de 20 cambios de aire por hora en un área con un buen patrón de flujo de aire y filtros HEPA apropiados. La limpieza de aire de un área es directamente proporcional a los cambios de aire, así tenemos que a mayor limpieza requerida, mayores serán los cambios de aire por hora.

### **c) Presión diferencial**

Este es un parámetro muy importante que se tiene que considerar en las áreas asépticas, ya que tiene gran influencia en la clase de limpieza del aire y consecuentemente en la calidad de los productos.

La presión diferencial en áreas asépticas debe ser mayor (positiva) que en las áreas no asépticas y debe mantenerse siempre, para evitar que las partículas de las áreas menos limpias migren a las más limpias. De esta manera se protege al producto de la contaminación exterior. Cabe señalar que la presión positiva se logra extrayendo menos aire del que ingresa al área. Los cambios de aire y la velocidad a la cual ocurren influyen de manera directa en la presurización del área.

Existen casos en los cuales no es recomendable usar presiones positivas, tal es el caso de los procesos que involucran la manipulación de productos peligrosos (oncológicos por ejemplo). Cuando se trabaja con este tipo de productos se debe mantener una presión negativa dentro del cuarto, para protección del personal y del ambiente, cumpliendo así con los requerimientos de las dependencias federales. Cabe señalar que el manejo de aire de retorno en estos casos debe ser el adecuado para no liberar contaminación al ambiente.

La presión debe ser la adecuada, ya que su exceso puede dificultar la apertura y cierre de puertas, puede generar problemas mecánicos en las instalaciones (resistencia de paredes y falsos plafones) y puede producir ruidos cuando existan fugas de aire a alta velocidad a través de pequeñas aberturas.

Se establece que la presión diferencial entre áreas asépticas no debe ser menor de 0.05 cm de columna de agua, mientras que entre áreas asépticas y no asépticas dicha diferencia de presión no debe ser menor a 0.12 cm de columna de agua. Los accesos de control de presión son útiles para mantener las diferenciales de presión. Debe considerarse que las puertas de tales esclusas no deben abrirse simultáneamente, para evitar contaminación y mantener la cascada de presión.

#### **d) Temperatura**

La temperatura es un parámetro que debe controlarse para comodidad del personal y para proporcionar condiciones estables a los productos, equipos o materiales. Como resultado de temperaturas externas severas, así como de la generación de calor dentro del área aséptica debida al equipo, a la gente o la iluminación es necesario controlarla mediante la activación del sistema de enfriamiento y los respectivos cambios de aire.

El uniforme que se usa en el área aséptica es especial, completamente cerrado e incluye escafandras y zapatones, que usados durante tiempos prolongados pueden provocar calentamiento y sofocamiento en las personas. Pero puede darse el caso de que las temperaturas suministradas sean muy bajas, resultando incómodo laborar eficientemente debido al entumecimiento del cuerpo. Por ello se deben mantener temperaturas confortables dentro del área, siendo las óptimas de 18 a 23°C. El enfriamiento del aire se produce en la unidad manejadora de aire, en donde el serpentín de enfriamiento absorbe el calor del aire y condensa la humedad que contiene. De esta manera disminuye la temperatura y la humedad del aire.

La temperatura es un parámetro que está sumamente relacionado con la humedad, ya que la modificación de uno implica la modificación del otro. En aquellos casos que se requiera incrementar la temperatura, porque las condiciones ambientales son frías y secas, será necesario agregar humedad para evitar las consiguientes molestias fisiológicas.

**e) Humedad relativa**

Al igual que la temperatura, la humedad es un parámetro que debe controlarse de acuerdo a los requisitos del proceso, con la finalidad primordial de brindar confort y bienestar al personal.

Para tener un adecuado control de la humedad dentro de las áreas, se deben considerar las condiciones climáticas externas. Así las cosas cuando se requiere enfriar el aire, es necesario deshumidificarlo, ya que el aumento de la humedad relativa, provoca la sensación de molestia y pesadez, además de facilitar la proliferación de microorganismos. También puede presentarse corrosión y condensación en las superficies de trabajo, lo cual resulta un inconveniente ya que el agua es una fuente de contaminación.

Los niveles bajos de humedad relativa, provocan el resecaimiento de las mucosas respiratorias y la deshidratación en general. Por tal motivo, es necesario agregar humedad siempre que se calienta el aire, para brindar bienestar al personal. Otra ventaja que presenta el incremento de humedad es que se disminuyen las cargas electrostáticas. El rango de humedad relativa establecida para el confort del personal debe ser de 30 a 60%.

**f) Partículas no viables**

El aire contiene diferentes contaminantes en suspensión en forma de polvo, polen, aerosoles y pelusas, entre otras partículas no viables, portadoras a su vez de microorganismos vivos y muertos; por lo tanto, es necesario darle un tratamiento previo antes de que ingrese a las áreas asépticas, las cuales requieren de un nivel de limpieza del aire apropiado para evitar contaminación de los productos estériles procesados en ellas. Dicho nivel de limpieza se logra mediante la combinación de tres elementos esenciales que son: la filtración del aire, el patrón de flujo y la presión diferencial.

A lo largo de la unidad manejadora de aire se ubican una serie de filtros de baja y mediana eficiencia que retienen partículas grandes suspendidas en el aire hasta llegar a los filtros HEPA los

cuales son capaces de retener partículas de más de 0.3 micras con un alto grado de eficiencia. La limpieza del aire en las clases A, B y C se logra mediante el uso de estos filtros. Como ya se mencionó anteriormente, la filtración por sí sola no es suficiente para controlar la concentración de partículas dentro del área, es por ello que el patrón de flujo de aire, la velocidad del mismo y la presión diferencial son esenciales para evitar la introducción, generación y retención de partículas dentro del área. Se deberá considerar también la cantidad de partículas de un tamaño dado que pudieran estar presentes dentro del área. Es importante señalar además de las fuentes externas de contaminación, las fuentes internas (emisiones respiratorias, descamación de la piel, etc)

El diseño de la instalación juega un papel muy importante para controlar la contaminación de partículas y microbios. Un área aséptica construida de manera apropiada y con materiales adecuados garantiza un nivel de limpieza ambiental óptimo, ya que las superficies no desprenden partículas y son fáciles de limpiar y sanitizar.

En una planta farmacéutica destinada a la fabricación de productos estériles, las diferentes áreas se clasifican de acuerdo al nivel de limpieza del aire requerido y dicha clasificación se basa en el número de partículas de un tamaño específico permitidas en las áreas. La Norma Federal 209E proponía una clasificación que se entiende más fácil, la cual establece que en un área Clase 100, existen 100 partículas mayores o iguales a 0.5 micras de tamaño suspendidas en el aire por pie cúbico y así sucesivamente en las demás clases. Dichas clases corresponden aproximadamente a los grados A, B, C y D propuestos por la Guía de Buenas Prácticas de Fabricación de la Unión Europea, con la diferencia que ésta última guía establece sus valores por metro cúbico de aire. Ver tabla 1.

GRADO	Número máximo de partículas permitidas		
	Por m <sup>3</sup>		Por ft <sup>3</sup>
	0.5 - 5 µm	> 5 µm	0.5 - 5 µm
A (Clase 100) Estación de trabajo con flujo de aire laminar	3 500	Ninguna	100
B (Clase 100)	3 500	Ninguna	100
C (Clase 10 000)	350 000	2 000	10 000
D (Clase 100 000)	3 500 000	20 000	100 000

Tabla 1 Clasificación del sistema de aire para la fabricación de productos estériles

A continuación se muestra la denominación de las clases de limpieza del aire de acuerdo a diferentes estándares y guías. Ver tabla 2

Clasificación de áreas y unidad de medida del volumen de aire de acuerdo a :			
SSA (NOM 059)	Estándar Federal de los Estados Unidos 209E	ISO 14644-1	Comunidad Europea
m <sup>3</sup>	ft <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>	m <sup>3</sup>
Clase 100	100	ISO 5	A y B
Clase 10 000	10 000	ISO 7	C
Clase 100 000	100 000	ISO 8	D

Tabla 2 Denominaciones de clases de áreas

Recientemente el Estándar Federal fue cancelado y suplantado por los estándares internacionales para cuartos limpios y ambientes controlados ISO 14644-1 e ISO14644-2. Por lo tanto la designación de las clases de limpieza, las cantidades y la unidad de medida del volumen de aire han cambiado con respecto a dicho estándar. La ISO 14644-1 adiciona tres clases adicionales, dos más limpias que la clase 1 y una más sucia que la clase 100 000. Ver tablas 3, 4 y 5

Estándar Federal 209E Clase	ISO 14644-1 Clase ISO
	1
	2
1	3
10	4
100	5
1,000	6
10,000	7
100,000	8
	9

Tabla 3 Comparación de clases de limpieza de aire

Clase	Número de partículas por metro cúbico (m <sup>3</sup> ) por tamaño en micrómetros (µm)					
	0.1 µm	0.2 µm	0.3 µm	0.5 µm	1 µm	5 µm
ISO 1	10	2				
ISO 2	100	24	10	4		
ISO 3	1,000	237	102	35	8	
ISO 4	10,000	2,370	1,020	352	83	
ISO 5	100,000	23,700	10,200	3,520	832	29
ISO 6	1,000,000	237,000	102,000	35,200	8,320	293
ISO 7				352,000	83,200	2,930
ISO 8				3,520,000	832,000	29,300
ISO 9				35,200,000	8,320,000	293,000

Tabla 4 Clasificación de limpieza de aire de acuerdo a la ISO 14644-1

Clase	Número de partículas por pie cúbico (ft <sup>3</sup> ) por tamaño en micrómetros (µm)					
	0.1	0.2	0.3	0.5	5.0	
1	35	7.5	3	1		-
10	350	75	30	10		-
100	-	750	300	100		-
1,000	-	-	-	1,000		7
10,000	-	-	-	10,000		70
100,000	-	-	-	100,000		700

Tabla 5 Clasificación de limpieza de aire de acuerdo al Estándar Federal 209E

### 5.3.2 PARÁMETROS MICROBIOLÓGICOS

#### a) Partículas viables

En un área aséptica se debe tener un estricto control microbiológico (partículas viables), lo cual se logra manteniendo dentro de límites todos los parámetros mencionados anteriormente. Las partículas no viables suspendidas en el aire actúan como vehículos de los microorganismos, por lo cual, el uso de filtros absolutos HEPA, la presurización del área y el patrón de flujo de aire deben ser los adecuados para evitar la introducción de microorganismos y de esta manera minimizar la contaminación. Pero no toda la contaminación microbiana proviene del exterior. En el ambiente interno la gente es la mayor fuente de contaminación debido a la descamación de la piel, además de ser portador de una gran cantidad de bacterias que puede emitir al entorno si no se toman las medidas adecuadas. Es por ello que la higiene y la capacitación del personal, así como la adecuada sanitización juegan un papel muy importante en el control microbiológico.

Se han establecido límites aceptables de microorganismos de acuerdo a las clases de limpieza del área. Ver tabla 6.

Clase	Número máximo de partículas viables permitidas por m <sup>3</sup>
100	< 3
10 000	< 20
100 000	< 100

Tabla 6 Límites de contaminación microbiana

Como podemos ver, el control de todos los parámetros ya mencionados contribuyen al buen funcionamiento de un área aséptica. A continuación se muestran a manera de resumen, los valores establecidos para cada parámetro. Ver tabla 7

PARTÍCULAS NO VIABLES	Clase 100 Área crítica aséptica Bajo flujo unidireccional	3,530/ m <sup>3</sup>
	Clase 10,000 Área aséptica Fuera de flujo unidireccional	353,000/ m <sup>3</sup>
	Clase 100,000 Área limpia	3,530,000/ m <sup>3</sup>
PARTÍCULAS VIABLES	Clase 100 Área crítica aséptica Bajo flujo unidireccional	< 3 / m <sup>3</sup>
	Clase 10,000 Área aséptica Fuera de flujo unidireccional	< 20 / m <sup>3</sup>
	Clase 100,000 Área limpia	< 100 / m <sup>3</sup>
TEMPERATURA	18 – 23 °C	
HUMEDAD RELATIVA	30 – 60 %	
CAMBIOS DE AIRE / HORA	No menos de 20	
VELOCIDAD DE FLUJO DE AIRE EN ÁREA CRÍTICA ASÉPTICA (BAJO FLUJO UNIDIRECCIONAL)	27 m/min ±20%	
PRESIÓN DIFERENCIAL	No menos de 0.05 cm de columna de agua entre áreas asépticas	
	No menos de 0.12 cm de columna de agua entre área aséptica y No aséptica.	

Tabla 7. Clasificación de áreas

## 5.4 MONITOREO AMBIENTAL 37,45,46,77,78,79,80,81,82,83,84,85

El monitoreo se lleva a cabo para asegurar que el área aséptica cumple con los requisitos establecidos. Para facilitar su calificación es necesario contar con un programa de monitoreo ambiental, que describa que sistemas y parámetros (físicos o microbiológicos) se van a monitorear y con que frecuencia se debe realizar. Debe incluir además un plan de acciones correctivas para cuando exista alguna desviación. El programa de monitoreo debe especificar un plan de muestreo, en el cual se describan los procedimientos y métodos empleados, identificar sitios de muestreo, frecuencia y número de muestras, volumen de aire por muestra, duración del muestreo, intervalos de tiempo entre medidas, tamaño de las partículas a contar, así como criterios de aceptación, niveles de alerta y acción. El monitoreo consiste en el recuento de partículas viables y no viables que se encuentran depositadas en las superficies o suspendidas en el aire. Se clasifica en:



- a) Monitoreo de parámetros físicos
- b) Monitoreo microbiológico

#### **a) MONITOREO DE PARÁMETROS FÍSICOS**

Este monitoreo incluye el recuento de partículas no viables y la integridad de filtros HEPA, principalmente. Adicionalmente deben realizarse pruebas para verificar la velocidad del aire, presión diferencial, temperatura, humedad relativa y visualización del patrón de flujo de aire.

##### *Recuento De Partículas No Viables.*

Esta prueba define la clasificación de limpieza del aire. El conteo de partículas no viables consiste en detectar todas las partículas en un determinado volumen de aire mediante el empleo de contadores de partículas electrónicos, los cuales operan bajo el principio de dispersión de la luz debido a las partículas cuando pasan a través de la celda del sistema óptico. Además de determinar la concentración de partículas, dichos contadores también reportan el tamaño de las mismas, ya que las partículas dispersan la luz de acuerdo a su tamaño. Por lo general, las partículas presentes en un cuarto limpio miden de 0.1 a 25 micras y los contadores son capaces de detectar partículas de hasta 0.1 micras. Existen diversas marcas de contadores electrónicos entre las cuales destacan climet, met one, particle measuring y la más conocida marca Royco. Cabe señalar que estos aparatos ofrecen una cuenta total ya que no diferencian entre las partículas viables y las no viables.

El monitoreo de partículas no viables debe realizarse en sitios críticos del proceso, donde dichas partículas pueden tener un impacto negativo. De esta manera se tendrá la certeza de que el producto corre menos riesgo de contaminación potencial. Los sitios idóneos son: la máquina de llenado donde interviene el personal (preferentemente cerca de las agujas), los accesos comunes al área, los difusores de aire (filtros HEPA del área y de la máquina con flujo laminar), las salidas de aire y la parte superior de la máquina. Durante el monitoreo, el contador de partículas debe acercarse al sitio de prueba a una distancia aproximada de 15 cm y deberá moverse lentamente ( $0.1 \text{ ó } 1 \text{ pie}^3/\text{min}$ ) a fin de evitar turbulencias.

La frecuencia de monitoreo es de cada quince días ó mínimo cada mes bajo condiciones normales de operación.

#### *Integridad de filtros HEPA*

Esta prueba se realiza para evaluar la eficiencia de los filtros HEPA en la remoción de partículas de más de 0.3 micras. Consiste en introducir humo de DOP (Dioctil ftalato) caliente en una concentración de 80 a 100 mg/L a través del filtro, se rastrea todo el perímetro de la cara anterior del filtro con la sonda de un fotómetro de dispersión de luz a una velocidad de  $1\text{pie}^3/\text{min}$ . Una concentración de humo de 0.01% indica que el filtro presenta fugas, por lo cual se tiene que cambiar o reparar. El uso de DOP resulta muy eficiente debido a que las partículas del mismo, miden aproximadamente 0.3 micras.

La prueba debe realizarse cada 6 meses para asegurar que el filtro esta bien sellado o antes si se sospecha de fugas en el mismo.

#### *Otras evaluaciones*

La *velocidad del flujo de aire* a través de los filtros se determina utilizando un anemómetro electrónico a una distancia de 6 pulgadas de la cara del filtro. El monitoreo de este parámetro se realiza cada 3 meses.

Las *pruebas de patrón de flujo de aire* deben realizarse para determinar si el flujo es laminar y uniforme. El método más común emplea un kit de humo de tetracloruro de titanio.

Para monitorear la *Temperatura*, es necesario que el sistema de aire se encuentre operando previamente al menos 24 horas. Se toman lecturas a intervalos de 15 minutos durante 2 horas.

La *Humedad Relativa* se determina tomando lecturas directamente del higrómetro.

La *presión diferencial* se verifica en los manómetros que se localizan fuera del área aséptica los cuales indican la diferencia de presión entre cada cuarto.

Bajo condiciones normales de operación, los parámetros de temperatura, humedad relativa y presión diferencial deben monitorearse continuamente o cada vez que se fabrique un lote. Durante la calificación se realiza de la misma manera durante 20 días consecutivos.

## **b) MONITOREO MICROBIOLÓGICO**

Mediante este tipo de monitoreo se verifica que las partículas viables en el área aséptica se encuentren dentro de límites establecidos. Se realiza una vez que el sistema de aire está bajo control y después de la limpieza y sanitización del área. Con esto se demuestra la efectividad de la sanitización, el buen funcionamiento de los sistemas de control ambiental y que la intervención del personal es la adecuada. Las determinaciones que se realizan son: monitoreo de aire, de superficies y de personal.

### **MONITOREO DE AIRE.**

Los métodos que se emplean comúnmente son: Sedimentación e Impacto (BIOTEST)

#### ***SEDIMENTACIÓN***

Este monitoreo se lleva a cabo mediante el empleo de muestreadores pasivos de aire, como son las placas con medio de cultivo, generalmente Agar soya tripticaseína (TSA) para cuenta viable total (bacterias) y Agar dextrosa sabourau (DSA) para hongos y levaduras. Otra alternativa para hongos y levaduras es el agar rosa de bengala (RBA) ya que contiene inhibidores de bacterias.

El método consiste en abrir las placas (de 10mm) y exponerlas al medio ambiente interno durante 30 minutos. Se incuban 48 hrs a 35°C las placas de TSA y de 72hrs a 7 días a 25°C las placas de DSA.

Este método determina la probabilidad de encontrar microorganismos, los cuales pueden encontrarse adheridos a las partículas no viables que sedimentan en el medio. Dicha sedimentación se relaciona con el tamaño de las partículas, así como con la dirección y velocidad del flujo de aire. Así las cosas, las partículas más grandes se depositan con mayor rapidez que las pequeñas, por tal motivo el tiempo de exposición debe ser el adecuado para obtener una muestra representativa y al mismo tiempo evitar la deshidratación del medio de cultivo.

En cuanto a los sitios de muestreo, es recomendable colocar 4 placas en la máquina de llenado (seccionada en partes iguales) y otras 4 de la misma manera en el área aséptica, procurando colocar al menos una placa cerca del cada acceso al área (pasillo, esclusa y vestidores). Bajo condiciones normales de operación, el monitoreo se realiza cada vez que se fabrica un lote. Durante la calificación se realiza de la misma manera, pero durante un periodo de 20 días consecutivos, para poder realizar un análisis estadístico de los datos.

### **IMPACTO**

En este método se emplean muestreadores activos de aire. El BIOTEST es un medio electrónico de este tipo, el cual funciona aspirando aire e impactando los microorganismos presentes sobre una placa de agar. Los medios de cultivo empleados son los mismos que en el método de placas pasivas (TSA y DSA).

Los sitios de muestreo pueden variar pero siempre deben ser lo más próximos a los sitios críticos del proceso, como son el acceso al área, cerca de la máquina de llenado y del personal.

Otro método de impacto consiste en hacer pasar un volumen determinado de aire mediante aplicación de vacío a través de una serie de tamices que retienen distintos tamaños de partícula. Los tamices son incubados sobre agar y se puede determinar el número de microorganismos asociados a partículas de diferentes tamaños

El monitoreo por este método se realiza 1 vez al mes bajo condiciones normales de operación.

### **MONITOREO DE SUPERFICIES**

Este monitoreo involucra el muestreo de todas las superficies del área aséptica, tales como paredes, pisos, techos, puertas, ventanas y equipo. Estas superficies pueden dividirse en partes iguales y muestrear el centro de cada porción; o bien, muestrear un solo sitio en toda la pared, piso, etc. El área recomendada a monitorear es de 24-30cm<sup>2</sup>.

El muestreo que se realiza es por contacto y para tal fin se emplean placas RODAC de 60mm (Replicación de Organismos por Contacto Directo en placas de Agar) o hisopos secos o húmedos.

### ***Placas de contacto***

Las placas de contacto RODAC contienen medio de cultivo en forma convexa. Los medios que se emplean generalmente son TSA, DSA y ocasionalmente RSA. Se recomienda emplear aditivos que neutralicen residuos de desinfectantes que pudieran estar en las superficies .

El método consiste en presionar suavemente el agar sobre la superficie a muestrear. Una vez que se tomó la muestra, se deben remover los residuos de agar que pudieran haber quedado en la superficie e incubar las placas a 35°C durante 48hrs. El contacto directo se recomienda en superficies planas.

### ***Hisopo (swab).***

Es el método ideal para muestrear sitios de difícil acceso. Consiste en pasar un hisopo embebido de solución reguladora estéril (también puede ser seco) por un área específica de la superficie a muestrear, luego se deposita en un volumen medido de diluyente (agua estéril o agua peptonada estéril) para su análisis. Sanitizar la zona muestreada. Cabe señalar que este muestreo, al igual que el de aire se llevan a cabo dentro y fuera del ambiente crítico.

El monitoreo de superficies se realiza cada mes.

## **MONITOREO DE PERSONAL**

Es recomendable monitorear a los operarios al final del proceso cuando salen del área aséptica, aunque en algunos lugares se realiza durante y después del llenado. Generalmente se muestrean los guantes y el uniforme para verificar el impacto de la biocarga sobre el producto.

Para monitorear los guantes puede emplearse el método de placa por contacto, pero el más recomendable es el de *enjuagado* y consiste en enjuagar cada guante con 100mL de agua destilada o solución reguladora estéril. Posteriormente esta solución se somete a un análisis microbiológico. Los resultados son satisfactorios cuando los operarios practican buenas prácticas asépticas y sanitizan los guantes antes de entrar al área crítica y periódicamente.

El uniforme de los operarios también debe someterse a este monitoreo, para lo cual se usan hisopos en seco. Para obtener resultados confiables, la recolección y análisis de la muestra deben

ser adecuados. Este monitoreo se considera como muestreo de superficie. Se realiza cada 2 semanas.

A continuación se muestran los límites microbiológicos permitidos durante el monitoreo ambiental.

Ver tablas 8 y 9.

Clase	Aire UFC/m <sup>3</sup>	Superficies UFC/placa de contacto (24-30cm <sup>2</sup> )	Placas de asentamiento UFC/ 4hrs (90 mm)	Guantes UFC/por placa de contacto	Barbijos, botas y batas UFC/placa de contacto
FEU *	Norma en Estados Unidos				
M3.5	100	3	3	-	3
M5.5	10,000	20	5 (piso:10)	-	20
M6.5	100,000	100	-	-	-

Tabla 8 Microorganismos viables: propuestos en la FEU\* <1116>

\*FEU (USP) Farmacopea de los Estados Unidos

Clase	Aire UFC/m <sup>3</sup>	Placas de asentamiento UFC/ 4hrs (90 mm)	Superficies UFC/placa de contacto (24-30cm <sup>2</sup> )	Guantes UFC/por placa de contacto	Barbijos, botas y batas UFC/placa de contacto
A	< 1	< 1	< 1	< 1	-
B	10	5	5	5	-
C	100	50	25	-	-
D	200	100	50	-	-

Tabla 9 Microorganismos viables: propuesta de la Comunidad Europea

## 5.5 CONDICIONES DE CALIFICACIÓN <sup>45,55,56</sup>

La calificación del área aséptica debe efectuarse bajo tres etapas distintas:

1. *Tal como está construido.* Se realiza sin equipo ni personal.

2. *En reposo* (Condiciones estáticas). Se realiza con el área equipada, pero sin operaciones ni personal.
3. *Operativa* (Condiciones dinámicas). Se realiza con personal y equipos operando.

En el monitoreo sin equipo ni personal (tal como está construido) se pretende verificar que la instalación vacía funciona dentro de los parámetros establecidos y no tiene impacto negativo sobre la calidad ambiental.

El monitoreo en reposo (condiciones estáticas), tiene como objetivo verificar el impacto que pueda tener el equipo como fuente de contaminación sobre la calidad ambiental.

En condiciones operativas (condiciones dinámicas) se verifica el grado en que los parámetros ambientales son afectados por el equipo y el personal operativo.

No todas las normativas hacen referencia a las condiciones de prueba citadas. Las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) de la Comunidad Europea hacen referencia a los productos que se esterilizan de manera terminal y contempla las condiciones dinámicas y estáticas, mientras que las BPF estadounidenses de FDA se refieren a los productos que no pueden ser esterilizados de manera terminal y contempla únicamente la condición dinámica. Cabe señalar que el número total de partículas permitido, varía según las condiciones de prueba. Ver tabla 10.

Grado	EN REPOSO		EN OPERACIÓN	
	Número máximo permitido de partículas/m <sup>3</sup> igual o mayor que			
	0.5µm	5µm	0.5µm	5µm
A	3,500	-	3,500	-
B	3,500	-	350,000	2,000
C	350,000	2,000	3,500,000	20,000
D	3,500,000	20,000	-	-

Tabla 10 Partículas Totales: Propuesta de las BPF de la Comunidad Europea

Los resultados obtenidos en las tres etapas deben demostrar que el área cumple con las especificaciones bajo condiciones normales y si es posible bajo condiciones de reto.

Cabe señalar que todas las pruebas realizadas durante la calificación deben efectuarse en base a procedimientos estándar de operación (PNO) y para que la calificación sea exitosa se requieren resultados consistentes dentro de las especificaciones durante 20 días laborales consecutivos bajo las tres condiciones citadas.

## **5.6 SANITIZACIÓN** 35,36,37,38,39,40,41,42,43,44

El flujo laminar ayuda a mantener el nivel de limpieza dentro del área, pero no remueve la contaminación microbiana de las superficies. Por tal motivo es indispensable que se lleve a cabo la limpieza y sanitización del área en base a procedimientos normalizados de operación (PNO's) previamente validados.

El área aséptica y el equipo deben someterse a procedimientos de limpieza y sanitización de rutina. La limpieza que se aplica puede ser menor, mayor o exhaustiva. La limpieza menor se realiza cuando se procesan de manera secuencial lotes del mismo producto. La limpieza mayor se realiza cuando se procesan productos diferentes o después de 5 lotes del mismo producto. La limpieza exhaustiva se lleva a cabo generalmente tras una remodelación o mantenimiento preventivo.

Dentro de las superficies que deben limpiarse y sanitizarse destacan los techos, paredes, pisos y equipo. Para la limpieza se emplean diferentes agentes que pueden ser alcalinos, alcalinos clorados o ácidos. Los limpiadores líquidos alcalinos ayudan a disolver grasas y evaporan rápidamente, no dejan residuos, no son tóxicos y no son inflamables, contienen secuestrantes, emulsificantes, son humectantes, biodegradables y de baja espuma. Los alcalinos clorados son humectantes, secuestrantes, de baja espuma y eliminan grasas. Los ácidos están hechos a base de ácido fosfórico, son humectantes y de baja espuma. Para enjuagar se emplea agua estéril o alcohol estéril. Cabe mencionar que la limpieza siempre se realiza de las superficies más limpias a las menos limpias.



Para la sanitización se usan agentes germicidas desinfectantes o sanitizantes de diferente composición química, tales como compuestos cuaternarios de amonio, compuestos clorados, compuestos fenólicos, alcohol y peróxido de hidrógeno. Otros menos empleados son el ácido peracético, glutaraldehído y compuestos iodados. Estos compuestos se emplean en base a un rol de sanitizantes a fin de evitar resistencia de los microorganismos. Los germicidas poseen acción únicamente sobre las formas vegetativas de las bacterias, lo cual no ocurre con el peróxido de hidrógeno, el cual es esporocida. Cabe mencionar que el peróxido de hidrógeno es útil para descontaminar y esterilizar ambientes y superficies. Este compuesto es un esterilizador de contacto, no es tóxico ya que se descompone en agua y oxígeno y garantiza el mismo nivel de esterilización que el autoclave de  $10^6$ . Entre otras aplicaciones, destaca su empleo en aisladores, áreas asépticas y esterilización de filtros HEPA. Su efectividad se determina mediante el uso de *Bacillus Stearotherophilus* como indicador biológico.

Las superficies a sanitizar deben estar limpias ya que los sanitizantes no son efectivos en superficies sucias. El tiempo de exposición de los sanitizantes debe ser el adecuado para que estos ejerzan su acción antimicrobiana.

En la selección del desinfectante se debe considerar que no sea tóxico, no corrosivo, no específico en su acción antimicrobiana, que no sea inactivado por materia orgánica o por el agua y que sea económico.

Cabe señalar que los agentes limpiadores y sanitizantes deben ser estériles, al igual que los lienzos empleados. El material de estos lienzos debe ser tal que resista la esterilización, los agentes químicos y debe desprender un mínimo de pelusas. Dentro de los materiales comúnmente empleados destacan el nylon, el polipropileno y el poliéster. Se debe tomar en cuenta la limpieza y sanitización de todos los materiales y utensilios que ingresan al área, tales como garrafones, plumas, etc, lo cual se realiza generalmente con alcohol etílico estéril al 70%. Este desinfectante también se usa para la desinfección de guantes.

Para demostrar que un equipo está limpio y esencialmente libre de residuos de sustancias activas, se emplean varias técnicas de validación, entre las cuales destacan la cromatografía de líquidos de alta resolución (HPLC), espectrofotometría ultravioleta/visible (UV/VIS) y el método de carbono orgánico total (TOC). Los métodos de HPLC y UV/VIS son específicos ya que identifican apropiadamente sustancias activas. El método de TOC no es específico, pero es ideal para detectar el carbono contenido en los compuestos incluyendo sustancias activas, excipientes y agentes de limpieza. Estos métodos presentan ventajas y desventajas, en el caso de HPLC se requiere de un método analítico para cada materia prima, lo cual resulta tardado y además costoso. En el caso del TOC no se puede identificar el tipo de residuo, pero se adapta a cualquier compuesto farmacéutico o agente de limpieza que contenga carbono.

Las áreas y equipos donde se procesan antibióticos requieren de una limpieza especial, la cual consiste en inactivar los restos penicilínicos, debido a que estos restos pueden generar una respuesta anafiláctica, la cual puede ocasionar la muerte. Al finalizar la fabricación se debe realizar la limpieza de las instalaciones y máquinas. Se pueden utilizar productos diversos como glutaraldehído y/o sosa con su posterior neutralización con ácido clorhídrico o utilizando enzimas especiales (beta-lactamasa, penasa o penicilasa). Estos productos hidrolizan el anillo beta-lactámico formando ácido penicilínico, el cual ya no tiene actividad biológica o farmacológica.

El glutaraldehído presenta la desventaja de que es muy tóxico, la sosa es efectiva y económica pero daña los equipos y las instalaciones si se usa continuamente, la enzima es efectiva y no daña los equipos e instalaciones pero es costosa. Dado a estos inconvenientes se ha desarrollado un producto a base de productos biodegradables que cumplen con la función de hidrolizar los restos beta-lactámicos de cualquier superficie denominado SANTEC 066-P el cual presenta la ventaja de no dañar equipos, instalaciones o el material de vidrio. Este producto se diluye en agua de acuerdo al beta-lactámico a hidrolizar. En el caso de las penicilinas y cefalosporinas se aconseja una concentración del 10-12% y 15-20% por 30 minutos de contacto respectivamente. La efectividad de la limpieza se determina mediante el muestreo con hisopo húmedo; o bien, por el método de

enjuague. En este último caso, el producto se remueve enjuagando con agua estéril, la cual se analiza para demostrar la efectividad.

## **5.7 CALIFICACIÓN DE PERSONAL** <sup>35,36,37,42,45,46,95,96</sup>

La calificación del personal en el área aséptica resulta sumamente importante, debido a que el ser humano representa la mayor fuente de contaminación dentro de ella. Dicha calificación se logra mediante la evaluación de cada individuo basada en lo siguiente:

1. **Entrenamiento.** El personal operativo involucrado en el proceso de manufactura debe tener un nivel de estudios, experiencia y entrenamiento adecuados. Esto es muy importante ya que la calidad del producto final depende del nivel de entrenamiento de los operarios. Durante dicho entrenamiento se desarrollan habilidades para evitar la contaminación de los productos. La capacitación y el adiestramiento forman parte de dicho entrenamiento.

La capacitación dirigida al personal operativo de áreas asépticas debe hacer hincapié en las Buenas Prácticas de Fabricación. Se debe impartir por personal calificado y con frecuencia para reforzar conocimientos; los puntos mínimos recomendados son:

- a) **Conceptos básicos de microbiología.** Incluye la descripción y comportamiento de los diferentes tipos de microorganismos, así como la importancia de la esterilización.
- b) **Conceptos básicos del área aséptica.** Se debe hacer referencia a las características básicas del área aséptica y al comportamiento adecuado del personal dentro de la misma.
- c) **Técnica de vestido.** Destacar la importancia en general, así como indicar la manera en que se colocan cada una de las piezas del uniforme estéril y la sanitización de los guantes para ingresar al área.
- d) **Procedimientos normalizados de operación (PNO's).** Se debe tener conocimiento de todos los PNO's involucrados en el proceso, por ejemplo: limpieza y sanitización de áreas y equipos, operación de equipos, número de personas permitidas en el área aséptica, etc.

- e) **Procedimientos de manufactura y acondicionado.** Deben ser conocidos y aplicados por el personal operativo. Como ejemplo podemos citar: procedimientos de fabricación, llenado y revisión óptica.
- f) **Seguridad e higiene.** Se debe capacitar acerca de los posibles riesgos de accidente que se pueden presentar, la manera de actuar, evitarlos y reportarlos, así como practicar buenos hábitos de higiene personal.

Cabe mencionar que al área de llenado aséptico debe ingresar un número mínimo de personas para evitar contaminación.

La capacitación tiene a bien, concientizar acerca de los problemas que se pueden presentar en la elaboración de productos estériles debido a un entrenamiento deficiente.

El adiestramiento se logra una vez que se ha recibido la capacitación y que se dominan las funciones desempeñadas en base a la práctica.

2. *Evaluación médica.* Se realiza periódicamente para determinar el estado de salud del personal (por lo regular cada 3 meses). Dicha evaluación incluye la realización de análisis clínicos, los cuales demuestran la ausencia o presencia de enfermedades infecciosas y mediante los cuales es posible tomar medidas adecuadas para prevenir oportunamente contagios entre el personal y contaminación del producto. El personal operativo no debe ingresar a las áreas productivas asépticas cuando los operadores presenten síntomas de resfrío, lesiones abiertas, afecciones dermatológicas u otra enfermedad infecciosa, hasta su recuperación, ya que de lo contrario se puede afectar adversamente la calidad de los productos.

Es responsabilidad del personal operativo informar a su jefe inmediato acerca de su estado de salud y llevar a cabo siempre buenos hábitos de higiene.

## **CONCLUSIONES**

---

La calificación del área aséptica resulta esencial cuando se elaboran formas farmacéuticas estériles, especialmente en el proceso de llenado ya que el producto se expone al ambiente por unos instantes. Cabe mencionar que las condiciones ambientales en el área de llenado deben ser las mismas para todos los productos estériles, aún cuando reciban esterilización terminal.

El área debe estar diseñada y construida de manera que minimice la contaminación ambiental. Para tal fin, es necesario considerar el material de construcción, las dimensiones, las distribución del área, los parámetros físicos y microbiológicos, así como el flujo racional de materiales y personal.

Es importante hacer notar que aún cuando un área aséptica se encuentre debidamente diseñada y controlada, es necesario llevar a cabo procedimientos de limpieza y sanitización de las superficies y equipo de manera rutinaria para obtener productos de calidad. Para evaluar el grado de limpieza de las áreas es necesario realizar un monitoreo de rutina para verificar que los límites establecidos se encuentren dentro de especificaciones.

Otro de los factores a considerar es la calificación del personal, ya que la intervención humana es la mayor fuente de contaminación dentro del área aséptica. A través de la capacitación se pretende concientizar a todo el personal, sobre los riesgos negativos que pueden ocurrir si no se cumplen adecuadamente las buenas prácticas de fabricación.

La calificación del área aséptica, al igual que otros elementos de la validación, resulta esencial para que un proceso de llenado aséptico se considere validado.

## BIBLIOGRAFIA

---

1. Avis, K.E., Lieberman, H.A., Lachman, L., Sterile Products, *The theory and Practice of Industrial Pharmacy* 3ª Ed. Lea & Febiger Philadelphia 1986, p. 639
2. Turco, S., King, R.E., *Sterile Dosage Forms* 3ª Ed. Lea Febiger, Philadelphia 1987 Cap. 2 p. 15-18
3. Halls, N.A., *Achieving Sterility in Medical and Pharmaceutical Products* . Marcel Dekker Inc. N.York 1994. Cap. 1, 2 y 8 p. 1-6, 17,18, 195 -236
4. *The Validation Dictionary*, Royal Palm Fl. *Institute of Validation Technology* 1997 p. 57
5. A.R. Gennaro., *Productos Parenterales. Remington Farmacia* 19 Ed. Editorial Médica Panamericana 1995. Tomo 2, p. 2271-2276, 2337-2407.
6. *United States Pharmacopeia 23, National Formulary 18* . The United States Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, MD, 1995 <1> p. 1650-1652, <51> 1681, <71> p. 1686-1690, <115> p. 1944, <771> p.1812, <785> y <788> p. 1813, Water p.1636-1637, <1225>, <1206>, <1211>, <1116>
7. *British Pharmacopoeia* Volume 2 (1998) Monographs: Formulated Preparations, General Monographs (Parenteral Preparations and Eye preparations)
8. Goodman and Guilman. *Las bases farmacológicas de la terapéutica*. 9ª Ed. Mc. Graw Hill, 1996. Cap. 1
9. Anzel, H.C., *Pharmaceutical Dosage Forms*, Editorial 1990 Cap. 8, p. 13, 26-32, 79-83, 86-87, 97-99, 232-238, 255-259, 283, 284, 287-292, 330
10. Banker G.S., Rhodes, C.T., *Modern Pharmaceutics*. Marcel Dekker Inc. N.York 1995, Vol. 72 p. 441-525
11. Akers, M.J., Nail, S.L., Groves, M.J., *Los diez temas actuales más importantes en parenterales. Informacéutico*, Vol. 4, Num. 3 (jun-jul) 1997 p. 34 - 43
12. Pikal, M.J., *Parenterals: Large Volume. Encyclopedia of Pharmaceutical Technology*, Vol 11. Marcel Dekker Inc. N.York 1992, p. 201-235

13. Stephen, M., Winter, M.D., Terminal Nutrition: Framing the debate for the withdrawal of Nutritional Support in Terminally ill Patients. *American Journal Med.* 2000; 109:723-726
14. Hallie Forcinio, WorlPHARM99, Display Packaging Innovations, *Pharmaceutical Technology* January 2000, p. 22-28
15. Akers, M., Karras, L., Wright, L., Sterile Prefilled Syringes, Current Issues in Manufacturing and Control. *Pharmaceutical Technology* October 2000, p. 188-196
16. Nielloud, F., Pharmaceutical emulsions and Suspensions, Book review, *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 51(2001) p. 83-86
17. Nielloud, F., Pharmaceutical emulsions and Suspensions, Book review, *International Journal of Pharmaceutics* 205 (2000) p. 199
18. Delke, A., Suverkrup, R., Dose Uniformity and redispersibility of Pharmaceutical suspensions 1 *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 48 (1999) p. 225-232 y 49 (2000) p. 73-78
19. Juma, M., Muller, B.W., The effect of oil components and homogenization conditions on the physicochemical properties and stability of parenteral fat emulsions. *International Journal of Pharmaceutics* 163(1998) p. 81-89
20. Bjerregaard, S., Soderberg, I., The effect of controlled osmotic stress on release and swelling properties of a water-in-oil emulsion. *International Journal of Pharmaceutics* 183 (1999) p.17-20
21. Food and Drug Administration. Guide to inspections of lyophilization of parenterals
22. Ward, K.R., Adams, H.D., Alpar, H.D., Irwin, W.J., Protection of the enzyme L-asparaginase during lyophilization: a molecular modelling approach to predicte required level of lyoprotectant. *International Journal of Pharmaceutics* 187 (1999) 153-162
23. Tesconi, M.S., Sepassi, K., Yalkowsky, S.H. Freeze drying above room temperature. *Journal of Pharmaceutical Sciences* Vo. 88 No. 5 Mayo 1999, p. 501-506
24. Zimmermann,E., Muller,R.H., Moder,K., Influence of different parameters on reconstitution of lyophilized SLN. *International Journal of Pharmaceutics* 196(2000) p. 211-213

25. Kaur, I.P., Singh, M., Kanwar, M.K., Formulation and evaluation of ophthalmic preparations of acetazolamide. *International Journal of Pharmaceutics* 199(2000) 119-127
26. Yaphin, Z., Clive, G.W., Meadows, D. Dry powder dosing in liquid vehicles: ocular tolerance and scintigraphic evaluation of a perfluorocarbon suspension. *International Journal of Pharmaceutics* 191(1999) 79-85
27. Akers, M.J., Parenteral quality control: sterility, pyrogen, particulate and package integrity testing. Marcel Dekker Inc. N.York 1994. Cap. 1, p.18, 65 – 85.
28. Grandics, Peter., Pirógenos en los productos farmacéuticos parenterales. *Pharmaceutical Technology*. Vol. 4 Num. 2 (2000) p. 21 - 25
29. Iturralde J.P., Fabricación de Productos estériles (Partes 1 y 2) Esterilización y esterilidad. *Tecnología Industrial*. Industria Farmacéutica Ene-Feb, Mar-Abr 1999
30. Boom, F.A., Van Der Veen, J. et al. Particulate matter determination in LVPs produced in Dutch Hospital Pharmacie, Part 2, Overview of the results. *Pda Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 54 (Jul-Aug) 2000, p 343-358
31. Gebhardt, U., Grumbridge, N.A., Knoch, A., Particulate contamination from siliconized rubber closures for freeze drying. *Pda Journal of Pharmaceutical Science & Technology* 50(Jan-Feb) 1996 p. 24-29 .
32. Cartensen Jens Thuro. *Drug Stability 2ª Ed.* Marcel Dekker 1995. Cap 1 p. 6-7
33. Florence, M., Alexandre, L., Daniel, A., et al. Organic solvents for pharmaceutical parenterals and embolic liquids: A review of toxicity data. *Pda Journal of pharmaceutical Science & Technology* 54(Nov-Dec) 2000 p. 456-469.
34. Robertson, M.I., Regulatory issues with excipients. *International Journal of Pharmaceutics* 187 (1999) p. 276-276
35. NOM-059-SSA1-1993, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
36. 21 Code of Federal Regulations Part 211, Subparts B, C & D Ch. 1 (4 - 1 – 00 Edition)
37. Guía de prácticas adecuadas de manufactura para cuartos limpios, Monografía Técnica No. 1, CIPAM, México D.F.



38. Herbert a. Lieberman, Leon Lachman. *Pharmaceutical dosage forms*, 2a. Ed. Rev. and expanded. New York; Marcel Dekker (1993). Cap. 4, p. 235 –314
39. ISO 14644-4, *Cleanrooms and associated controlled environments, Part 4: "Design, construction and start-up"* (Abril 2001)
40. ISO 14644-1, *Cleanrooms and associated controlled environments, Part 1: "Clasification of air cleanliness"* (Mayo 1999)
41. Guía de buenas prácticas de fabricación: "Diseño y construcción de áreas limpias" Primera edición, Monografía Técnica No. 18., CIPAM, México D.F. 1999
42. Buenas prácticas de manufactura para productos farmacéuticos (parte 3) . *Revista mexicana de ciencias farmacéuticas*, Vol. 27, No. 3, Jun-Jul 1996. p. 38 – 47.
43. Guía de buenas prácticas de fabricación: "Diseño y construcción de establecimientos de la industria química farmacéutica" Primera edición, Monografía Técnica No. 12, CIPAM, México D.F. 1999
44. Valencia, Eduardo., *Administración del diseño y construcción de plantas farmacéuticas. Informacéutico*. Vol. 9, No. 2, Mayo 2002
45. Frederick Carteton, James P. Agalloco. *Validation of aseptic pharmaceutical processes*. New York. Marcel Dekker. 1986. Capítulos 1, 3, 6, 7 y 24 p. 3, 6, 9-15, 30-40, 125-159, 169, 174-181, 655, 662-663
46. Food and Drug Administration. "Guideline on sterile drug products produced by aseptic processing", Center for Drug Evaluation and Research. June 1987 (reprinted June, 1991)
47. Getting the surfaces right on the clean room. *Manufacturing Chemist* March 1996 p. 14, 15.
48. John E. Lincoln. The FDA's Draft Process Validation Guidance. *Journal of Validation Technology*. Volume 5, Number 3, Mayo 1999
49. Fernando Bustos, V. *Calificación de equipo. Curso Tecnología de Tabletas AFM* Agosto 2000
50. Heinz Neuhaus, Ian K. Sykes. *Validation Concept for a Plasma Fractionation and Parenteral Drug Manufacturing Facility A Case Study*. *Journal of Validation Technology*. Volumen 5, No. 3
51. Mike Gough, *Facility monitoring systems validation A practical approach*. *Clean Rooms*, September 2001

52. Excerpt from Technical Guide: Validating and Establishing a Routine Environmental Monitoring Program for Clean Room Environments. Institute of Validation Technology.
53. Betzaida Castilla, Validation Documentation A Winning Approach. Journal of Validation Technology. IVT
54. FDA Guideline on General Principles of Process Validation
55. James Agalloco, Qualification and Validation of Environmental Control Systems. PDA Journal of Pharmaceutical Sciences & Technology. Accepted Dec. 1995
56. Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación: Segunda parte. Partes 11 y 17.
57. Brian Glennon. Control system validation in multipurpose biopharmaceutical facilities. Journal of Biotechnology 59 (1997) 53-61
58. Validation in Bioprocessing. Book Review. *Biotechnology Advances*, Vol. 15, No. 2, pp. 379-382, 1997
59. WHO GMP- Chapter one. Quality mangement & Validation: Main principles for pharmaceutical products.
60. Calificación y Validación. Versión final del anexo 15 de la guía comunitaria de Normas de correcta fabricación. Comisión Europea.
61. Keneth E. Avis., Veinte años de cambio en la industria parenteral. Pharmaceutical Technology. Jul-Sep. 1997 p. 34-35
62. Validación anual de productos. Monografía Técnica No. 14 CIPAM
63. Couriel, Benito., Alvarado, José., Validación de procesos farmacéuticos. Asociación Farmacéutica Mexicana. 1982.
64. Ley Federal Sobre Metrología y Normalización. Diario Oficial de la Federación, 20 de mayo de 1997
65. Ley General de Salud. Reforma en el Diario Oficial de la Federación de 14 de Junio de 1991.
66. Mariñelarena, Abraham. Cuartos limpios-que es lo que hay que pedir. Cleanroom article. P. 1-3
67. Quadri, Nestor. Sistemas de aire acondicionado. Ed. Alsina. Buenos Aires Argentina 1ª. Edición 2001. Cap. 1.

68. K. Hagstrom, E. Sandberg. Clasificación for the room air conditioning strategies. *Building and Environment* 35 (2000) 699-707.
69. T. Schroth, S. de Muller. Nueva normativa y nueva técnica de producción de filtros HEPA/ULPA para salas limpias. *Industria Farmacéutica Enero/Febrero 1999*. p. 59-65
70. Emilio Moia, Foster Wheeler. El criterio de diseño de una sala limpia farmacéutica. *Industria Farmacéutica*. Marzo/Abril 2000
71. M. Cheng, G. R. Liu, K.Y. Lam. Approaches for improving airflow uniformity in unidirectional flow cleanrooms. *Building and Environment* 34 (1999) 275-284
72. Fred Grover. Considerations for cleanrooms. *Manufacturing Chemist*. September 1995. p.17-20
73. Notice of Cancellation of FED-STD-209. Notice 1. November 29, 2001
74. International Cleanroom Standards. Hoffman Environmental, Inc. *New Construction*. p. 1-3
75. Increasing demand for clean machines. *Manufacturing Chemist*, March 1996. p. 17,19
76. Paul Gander. Debating the case for sterile filling. *Manufacturing Chemist* June 1998. p. 29,30
77. Susana Sánchez. Criterios para establecer límites de control en monitoreos microbiológicos. *Informacéutico* Vol. 8, No. 5 Noviembre 2001. p. 36-39.
78. ISO 14644-2, Cleanrooms and associated controlled environments, Part 2: "Cleanroom Testing for Compliance" Septiembre 2000
79. James Akers and James Agalloco. Environmental Monitoring: Myths and Missapplications. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* Vol. 55, No. 3, May/June 2001. p. 176-184
80. James Wilson. Environmental Monitoring : Misconceptions and Missapplications. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* Vol. 55, No. 3, May/June 2001. P. 185-190
81. Mark Zemler. An Approach to a Qualification Plan for an Aseptic Filling Room. *Journal Validation Technology* Vol. 6, No. 3, Mayo 2000. p. 647-655
82. James E. Akers. Environmental Monitoring and Control: Proposed Standards, Current Practices, and Future Directions. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology* Vol. 51, No. 1, Jan/Feb 1997. p. 36-43
83. Guide to Inspections of Sterile Drug Substance Manufactures

84. Raj Jaisinghani, Greg Smith. Control and Monitoring of Bioburden in Biotech/Pharmaceutical Cleanrooms. *Journal of Validation Technology* Vol. 6, No. 4, August 2000. p. 686-695
85. Muestreo para Análisis Microbiológico
86. José G. Estrada G. Limpieza de restos penicilínicos. *Informacéutico* Vol. 9, No. 3, Julio 2002, p. 27,28
87. Barbara Savage. Ensuring sterile surfaces withing the cleanroom. *Manufacturing Chemist* September 1999. p. 31-33
88. Keeping contamination out of the cleanroom. *Manufacturing Chemist* March 1998. p. 25,27
89. Douglas W. Cooper. Cleaning Aseptic Fill Areas. *Pharmaceutical Technology* February 1996. p. 52-60
90. Vivian F. Denny, Elaine M. Kopsis. Elements for a successful disinfection program in the pharmaceutical environment. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology*. Vol. 53, No. 3, May-June 1999. p.115-124
91. H. Kaise, D. Klein, E. Kopsis. Interaction of Didinfectant Residues on cleanroom substrates. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology*. Vol. 53, No. 4 Jul-August 1999. p. 177-180
92. Michael Jahnken and Gerard Lauth. Biodecontamination of a large volume filling room with hydrogen peroxide. *Pharmaceutical Engineering*, Jul-August 1997. p. 1-12
93. Karen A. Clark. Total organic carbon analysis for cleaning validation in pharmaceutical manufacturing. *Journal of Validation Technology*. Vol.6, No.4, August 2000. p. 696-700
94. Guía de Buenas Prácticas de Fabricación: "Procesos de limpieza y su validación en áreas de fabricación". Primera Edición. Monografía Técnica No. 16, CIPAM, México D.F. 1999
95. Cathelene V. Compton and Chery D. Norder. Validated Training Qualification. *Journal of Validation Technology*. P. 58-60.
96. David Gallup, Katherine Beauchemin. A comprehensive approach to compliance training in a pharmaceutical manufactuting facility. *PDA Journal of Pharmaceutical Science & Technology*. Vol. 53, No. 4, July-August 1999. p. 163-167