



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

"DESARROLLO E IMPLEMENTACION DEL PLAN MAESTRO PARA LA VALIDACION DEL PROCESO DE LIMPIEZA EMPLEANDO EL METODO TOC (Carbono Orgánico Total), EN PROCESOS FARMACEUTICOS SOLIDOS ORALES"

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA
PRESENTA:
IMELDA ROCIO GUZMAN CERVANTES



EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

MEXICO, D. F.

2005

17344608



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 Prof. María del Socorro Alpizar Ramos

Vocal Prof. Raúl Lugo Villegas

Secretario Prof. Angel Avila Villagrán

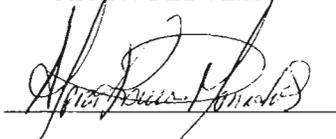
1er. Suplente Prof. María Guadalupe Díaz Nanclares

2do. Suplente Prof. Casimiro Frausto Campos

Sitio en donde se desarrolló el tema:

Departamento de Aseguramiento de Calidad, APOTEX, México

ASESOR DEL TEMA



María del Socorro Alpizar Ramos

SUPERVISOR TÉCNICO



Margarito A. Morales Borboa

SUSTENTANTE



Imelda Rocío Guzmán Cervantes

Este trabajo esta dedicado al hombre más importante en mi vida, desafortunadamente dios no quiso que estuviera aquí para compartir este logro conmigo, pero se que desde donde se encuentre estará muy orgulloso de mi.

Gracias por tus consejos, por tus regaños, por tu apoyo incondicional, por tu cariño, por compartir tu tiempo, por la mamá que me diste, por darme la vida, por ser un hombre ejemplar, por ser un hombre exitoso, pero sobre todo.....agradezco a Dios por darme un PADRE como tu

GRACIAS PAPA DONDE QUIERA QUE ESTES

AGRADECIMIENTOS

Creo que este es uno de mis mayores logros en la vida, que vale la pena compartir y agradecer a todas aquellas personas que de una u otra forma me han ayudado a hacerlo realidad.

*A mis padres, Francisca y Fermin *: Dicen que los hijos son el reflejo de los padres. Agradezco a Dios por darme unos padres como ustedes. Los quiero mucho.*

A mis Abuelitas, Enequina, Juanita* y Nieves*: porque en todos los recuerdos agradables de mi infancia siempre están ustedes, Gracias por quererme, consentirme y cuidarme tanto, pero sobre todo, gracias por los principios y valores que inculcaron en mí.*

A mi hermana Carmen: sin tu ejemplo, consejos y ayuda no hubiera llegado hasta donde estoy ahora, gracias por trazar el camino y ayudarme a seguirlo.

A mis hermanos Enrique, Marco y Víctor: su diversidad de carácter, ideas y pensamientos me ayudó a aprender un poco de cada uno de ustedes. Gracias Quique porque ahora comprendo que ser el hermano mayor no es nada fácil, gracias Marco por enseñarme que de los errores también se aprende y sobre todo, gracias Vic por quererme tanto, por ser mi cómplice y mi gran amigo, los quiero mucho.

A mi cuñado Gabo: Siempre es de gran ayuda contar con personas inteligentes y bondadosas como tu. Gracias por tu apoyo

A mis cuñadas María y Sarahi: Gracias por su apoyo moral

A mis sobrinos Víctor, Karina Gabriel y Donoban: Gracias por hacerme cómplice de sus travesuras, por llenar mi vida de alegría, amor y sobre todo por que sin querer me alientan cada día a ser mejor, los quiero mucho enanos.

Dicen que un hermano puede no ser un amigo, pero un amigo será siempre un hermano es por esto que agradezco a todos mis amigos

A Guadalupe, Alejandra, David y Eduardo: los momentos que viví en la secundaria no hubieran sido tan divertidos y especiales si no fuera por ustedes.

A Jacqueline, Norma, Lorena, Braulio, Rome, Alberto, Elida, Tonatiu, Estela y Laura: Gracias por enseñarme a combinar escuela, deporte y diversión, pero sobre todo gracias por formar parte de los mejores recuerdos de preparatoria.

A mis amigos de la FQ:

Sandra, Abril, Karla, Daniel, George, Boites, Queto, Liliana, Oscar, Israel, Ricardo y Marquitos: Gracias por los buenos momentos que durante todo este tiempo hemos compartido y Gracias por su apoyo y ayuda en los momentos difíciles.

A Maricela Ciprian y Adriana Trejo: porque el trabajo en equipo es bueno, y más contando con personas como ustedes. Gracias por su amistad y apoyo en los últimos semestres de la carrera.

A Paco Rivas y Aurelio: El ser diferentes, los hace ser especiales, gracias por su apoyo y amistad incondicional.

A Lilia, Cristina, Hugo, Perla, Edgar, Rafa y Jaime: fue poco tiempo que compartimos, pero esta lleno de gratos momentos

A Raúl Tafolla Rodríguez: Gracias por enseñarme que la sabiduría suprema es tener sueños bastante grandes para no perderlos de vista mientras se persiguen. Creo que Dios no pudo haber puesto en mi camino una persona mejor que tú. Gracias por tu ayuda, tu tiempo, tu amor y amistad en cada momento.

A mis compañeros y asesores de APOTEX:

Al Ingeniero Miguel Antonio Bernal López: Para que un equipo sea exitoso requiere de un líder exitoso. Gracias por permitirme formar parte de su equipo, por sus consejos, por enseñarnos a ser mejores cada día, por ser un jefe ejemplar y sobre todo, gracias por su Amistad.

Al QFB Margarito Morales: Gracias por enseñarme que la calidad nunca es un accidente; siempre es el resultado de un esfuerzo de la inteligencia No se en que forma agradecerte todo lo que has hecho por mí, gracias por tus consejos, tus regaños, tus enseñanzas, etc. Eres un gran hombre!

A Perla Magos: Creo que no pude haber encontrado un mejor ejemplo a seguir, eres una gran mujer y una gran amiga. Gracias.

A Esther, Lety y Luis: Por todo el apoyo moral, físico, social y psicológico que me han brindado y por sus grandes lecciones de vida. Los quiero y extraño mucho.

A Mario, Alejandro, Raúl, Ignacio y Claudia: Gracias por compartir un poco de lo mucho que ustedes saben, por su ayuda y apoyo en la realización de este trabajo.

A mis Asesores y sinodales:

A la M. en C. Socorro Alpizar: Ya que sin su ayuda hubiera sido muy difícil alcanzar este logro. Gracias por sus consejos tan acertados.

A los Profesores Ángel Ávila y Raúl Lugo. Gracias por invertir un poco de su tiempo para la revisión de este trabajo

A APOTEX, México: Gracias por promover el desarrollo laboral en profesionistas recién egresados.

A la Universidad Nacional Autónoma de México: Por darme el gran orgullo de llamarme Universitaria!!!

Nunca consideres el estudio como una obligación, sino como una oportunidad para penetrar en el bello y maravilloso mundo del saber.

William Faulkner



ÍNDICE:

	Página
LISTA DE TABLAS.	iv
LISTA DE FIGURAS.	v
1. INTRODUCCION	1
1.1. Objetivo	2
1.2. Planteamiento del problema	3
2. FUNDAMENTOS DEL TEMA	4
2.1. Plan maestro de validación	4
2.2. Validación en la industria farmacéutica	4
2.3. Generalidades de limpieza	8
2.3.1. Limpieza	
2.4. Procedimientos Normalizados de Operación (PNO's) para la limpieza de equipos	11
2.5. Limpieza y/o sanitización.	13
2.6. Validación de procesos de limpieza	18
2.7. Evaluación de limpieza	18
2.7.1 Selección del producto para análisis de limpieza (peor caso)	18
2.7.2 Equipos y selección de puntos de muestreo	23
2.8. Métodos de muestreo	25
2.8.1. Tipos de muestreo	25
2.9. Métodos analíticos	28
2.9.1. Carbono Orgánico Total (TOC)	31
2.10. Pruebas Estadísticas	38
2.11. Criterios de aceptación	43
2.11.1. Criterio basado en niveles de actividad biológica tales como 1/1000 de la dosis terapéutica normal	45
2.11.2. Criterio basado en datos de toxicidad tal como DL ₅₀	47
2.11.3. Criterio basados en la determinación analítica de niveles tales como 10 ppm	49



2.11.4. Criterio basado en niveles organolépticos tales como residuos no visibles	50
2.11.5. Consideraciones microbiológicas	51
2.12. Protocolo de validación	52
3. MATERIALES Y METODOS	56
3.1. Instrumentos y equipos	56
3.2. Reactivos	56
3.3. Materiales	57
4. DESARROLLO EXPERIMENTAL	59
4.1. Selección del peor caso y equipos a validar	59
4.2. Procedimientos de Limpieza	62
4.3. Métodos de muestreo de residuos	62
4.4. Método de análisis de residuos	63
4.4.1 Validación del método analítico (TOC)	64
a) Adecuabilidad	
b) Linealidad del sistema	
c) Repetibilidad	
d) Linealidad del método	
e) Exactitud	
f) Limite de Detección (LOD)	
g) Limite de Cuantificación (LOC)	
4.5. Criterios de aceptación	77
4.5.1 Para principio activo	77
4.5.2 Para sanitizante	77
4.5.3 Microbiológico	78
5. RESULTADOS	79
5.1. Validación del método analítico	79
5.1.1 Validación Método Analítico Nimesulida	79
5.1.2 Validación Método Analítico Estavudina	81
5.2. Estudios de Recobro	83
5.3. Validación de limpieza de equipos	83
5.3.1 Trazas de principios activos	83
5.3.2 Trazas de sanitizante	87
5.3.3 Resultados Microbiológicos	87



6. DISCUSIÓN	88
7. CONCLUSIONES	90
8. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES	91
9. ANEXOS	92
10. BIBLIOGRAFIA	150



LISTA DE TABLAS

	Página
TABLA 1. Clasificación de principios activos por sus características de solubilidad	20
TABLA 2. Clasificación de principios activos por sus características de Toxicidad	21
TABLA 3. Clasificación de principios activos por dosis terapéutica	21
TABLA 4. Clasificación de principios activos por detección visual	22
TABLA 5. Técnicas de muestreo comunes utilizadas en la validación de procesos de limpieza	25
TABLA 6. Tipos de muestreo utilizados para la validación de limpieza	27
TABLA 7. Métodos comúnmente usados para la validación de limpieza y tipo de residuos para los cuales se aplican.	29
TABLA 8. Ventajas y Desventajas de los métodos analíticos más comunes empleados en la validación de limpieza.	30
TABLA 9. Lista de equipos que intervienen en la fabricación de los productos clasificados como peores casos.	59



LISTA DE FIGURAS

	Página
FIGURA 1. Esquema general de un proceso de limpieza	9
FIGURA 2. Diagrama de flujo TOC-VCPH	38
FIGURA 3. Diagrama general para la elaboración del plan maestro para la validación de procesos de limpieza	58
FIGURA 4 Diagrama de etapas generales del procedimiento de limpieza	62



1. INTRODUCCION

El proceso de limpieza de los equipos de manufactura en una planta farmacéutica, es un paso esencial en el proceso de fabricación de productos que cumplan con los estándares de calidad y seguridad requeridos por las agencias regulatorias. Como todo proceso crítico en la industria farmacéutica, este debe ser debidamente validado con un plan maestro que incluya protocolos y procedimientos operacionales debidamente aprobados.

La razón principal al validar los procedimientos de limpieza, es obtener un alto grado de confianza de que se está protegiendo al consumidor de contaminación cruzada (presencia de principios activos que no son parte de la formulación) y de microorganismos que pudieran ser dañinos al ser humano.

Como regla general toda sustancia química que no forma parte de la formulación del producto farmacéutico y que es añadida durante el procedimiento de limpieza debe ser eliminada, esto incluye, pero no se limita, a:

- Detergentes
- Sanitizantes
- Solventes

Adicionalmente se deberá asegurar que antes de utilizar los equipos de manufactura, estos no deben poseer residuos de productos previamente manufacturados.



1.1 OBJETIVO

Desarrollar un plan maestro para la validación de los procedimientos de limpieza de los equipos empleados en la fabricación de formas farmacéuticas sólidas orales, utilizando el método de Carbono Orgánico Total (TOC).



1.2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Alcanzar y mantener la calidad de los productos requiere entre otras cosas de un programa de limpieza y sanitización formal y consistente. Así mismo, las compañías deben adoptar una estrategia apropiada donde se evalúe y establezca para cada proceso de limpieza, el límite de aceptación de residuos, así como el mecanismo de evaluación y sanitización más apropiado de acuerdo a los requerimientos previamente establecidos.

En la industria farmacéutica existe un gran interés en desarrollar e implementar nuevos métodos para validar los procesos de limpieza, ya que en la actualidad, a pesar de que no existen especificaciones establecidas por las agencias regulatorias, estas sí exigen que se cuente con un programa de validación de limpieza basado en procesos de limpieza detallados, programas de entrenamiento, protocolos de validación, métodos químicos y microbiológicos validados, un programa de control de cambios, un informe final y la revisión requerida para asegurar conformidad.

En el presente trabajo se propone una alternativa para la validación de los procesos de limpieza utilizando el método analítico TOC, que en los últimos años se ha demostrado que, a pesar de ser un método no específico, es una de las mejores opciones para la validación de limpieza, estableciendo que el método "TOC" tiene una detección de niveles bajos, un tiempo de análisis corto, es de bajo costo comparado con otros métodos y puede detectar todos los residuos con una base de carbón.

Lo anterior no solamente beneficia a la compañía que fabrica el medicamento, sino también al consumidor del producto ya que, como principal beneficio, le permite adquirir productos cuya integridad ha sido comprobada.



2. FUNDAMENTOS DEL TEMA

2.1 PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN

El plan maestro es un documento oficial que establece la filosofía y/o la política de validación bajo la cual la compañía farmacéutica llevará a cabo la validación de sus procesos de limpieza. Un plan maestro normalmente:

- a) Define las responsabilidades
- b) Define el objetivo del proyecto y los parámetros críticos a ser evaluados
- c) Especifica los equipos, productos, excipientes, detergentes, sanitizantes activos y la potencia de estos, y los relaciona con el programa de limpieza
- d) Establece los muestreos, los métodos microbiológicos y analíticos y los criterios de aceptación para cada una de las pruebas determinadas.
- e) Establece los PNO's requeridos
- f) Establece criterios de aceptación
- g) Determina cuando es necesaria la revalidación^(35,27,16)

2.2 VALIDACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

Validación

Validación se define como 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. ^(24,12,16,21)



Es un requerimiento de las autoridades que los fabricantes de medicamentos determinen que actividades de validación son necesarias para demostrar el control de sus operaciones

La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993, *Buenas Prácticas de Fabricación para Establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica dedicados a la fabricación de Medicamentos*, establece que "todas las instalaciones, equipos, sistemas críticos y computacionales (que impacten en la calidad del producto) deben estar calificados, y los métodos de limpieza y analíticos deben validarse al inicio de la operación y terminados antes de la liberación del producto".

Los objetivos de la validación son:

- a) Confiabledad, en todos los factores que directa o indirectamente influyen en la calidad del producto.
- b) Seguridad, eliminar todo tipo de riesgo o confusión
- c) Efectividad, basada en la reproducibilidad de los productos y controles

¿Por qué se debe validar?

Un sistema validado es un sistema estable, capaz y confiable, y es así como nos interesa mantenerlo, dado que estas características son esenciales para mantener altos niveles de calidad. Un sistema no validado es un sistema fuera de control.

Con la validación se consigue:

- a) Asegurar la calidad
- b) Reducir costos
- c) Aumentar la productividad
- d) Cumplir con las regulaciones gubernamentales
- e) Optimizar los procesos



Tipos de validación:

i) Validación prospectiva

Este tipo de validación es normalmente empleado en el desarrollo de nuevas formulaciones, procesos y/o instalaciones que deben ser validadas antes de que la producción farmacéutica rutinaria comience, e involucra una fase experimental. Este tipo de validación conduce a menudo a la transferencia del proceso de desarrollo a producción. La FDA está buscando evidencia de que el proceso de fabricación este validado antes de que se permita que un producto entre en el mercado.

Los requisitos para realizar una validación prospectiva son necesarios para satisfacer los principios de garantía de calidad. Estos requisitos deben reunir todas las funciones técnicas: calificación del equipo, instalaciones y sistemas. Producción debe comprobar que sus sistemas operativos estén trabajando correctamente; el departamento de desarrollo debe certificar que su proceso es realizado según lo diseñado. El objetivo de este tipo de validación es demostrar que el producto se puede producir rutinariamente con confianza basándose en un protocolo establecido.

ii) Validación concurrente

Se define como el establecimiento de la evidencia documental de que un proceso hace lo que pretende hacer basado en la información generada durante la puesta en práctica real del proceso.

Cuando el concepto de la validación concurrente es comprendido por una organización, es importante que cada uno apoye el uso de ella como herramienta de garantía de calidad. Los estándares de calidad de cada disciplina se ven influenciados normalmente debido a las presiones



comerciales normales, pero es esencial que no se descuide la garantía de calidad. El formato de la validación, en general, y la validación concurrente, en detalle, permitirán la flexibilidad necesitada para la situación; también proporciona el vehículo para un acercamiento disciplinado que asegura que no se lanzará ningún producto inaceptable.

Para efectos de la validación se considera lo siguiente:

Se realiza el monitoreo de las variables críticas que demuestre que el proceso este bajo control.

Se toman datos sobre la marcha del proceso en estado productivo.

Se necesita como mínimo tres lotes estándares consecutivos.

iii) Validación Retrospectiva

Consiste en establecer evidencia documentada de la idoneidad de un proceso basado en la revisión y análisis de información histórica acumulada, siempre y cuando no se hayan modificado los procedimientos, maquinarias, tamaño del lote, etc. Los datos generados existen ya, pero necesitan ser documentados de una manera que demuestre claramente que el proceso este bajo control.

iv) Revalidación

Revalidación indica que el proceso se debe validar de nuevo. Sin embargo, puede no significar necesariamente que el programa original debe ser repetido. Si la validación de proceso se ve como herramienta de la garantía de calidad, los requisitos de esta dictarán cómo se realiza la revalidación.

La revalidación es una repetición de la validación del proceso para proveer un aseguramiento de que los cambios en el proceso/equipo, introducidos de acuerdo con los procedimientos de control de cambios, no afecten adversamente las características del proceso y la calidad del producto. ^(24,12,21)



2.3 GENERALIDADES DE LIMPIEZA.

2.3.1 Limpieza

Alcanzar y mantener la calidad de los productos requiere entre otras cosas de un programa de limpieza y sanitización formal y consistente. Las compañías deben adoptar una estrategia apropiada donde se evalúe y establezca para cada proceso de limpieza, el sanitizante más apropiado de acuerdo a los requerimientos previamente establecidos.

El CFR 21 en su apartado 211.67 establece: “El equipo y los utensilios deben limpiarse, mantenerse y sanitizarse a intervalos apropiados para evitar el mal funcionamiento o contaminación que pudieran alterar la seguridad, identidad, potencia, calidad o pureza del producto farmacéutico mas allá de los requerimientos oficiales o de otros establecidos” ⁽¹⁰⁾

Limpieza se define como el grado de aceptación de sustancias, partículas y microorganismos no deseables cuyo efecto sea adverso al producto o proceso. ^(12,16,30)

Proceso de limpieza

El proceso de limpieza tiene como objetivo remover ó disminuir residuos de activo, excipientes, mezcla de ambos, detergentes o algunos otros contaminantes que puedan crear un producto adulterado.

Los procesos de limpieza se aplican para todos los equipos de fabricación, accesorios y áreas que tienen contacto directo con el producto o sus componentes. Dependiendo de las políticas internas de cada empresa, será la



forma de efectuar de manera eficiente dichos procesos. Algunas consideraciones que se deben tomar en cuenta son:

- a) Diseño del equipo: desarmado, forma de limpieza, proceso específico y rearmado
- b) Procesos asépticos y no asépticos
- c) Las diferentes áreas de fabricación: líquidos sólidos, semisólidos, inyectables, etc.

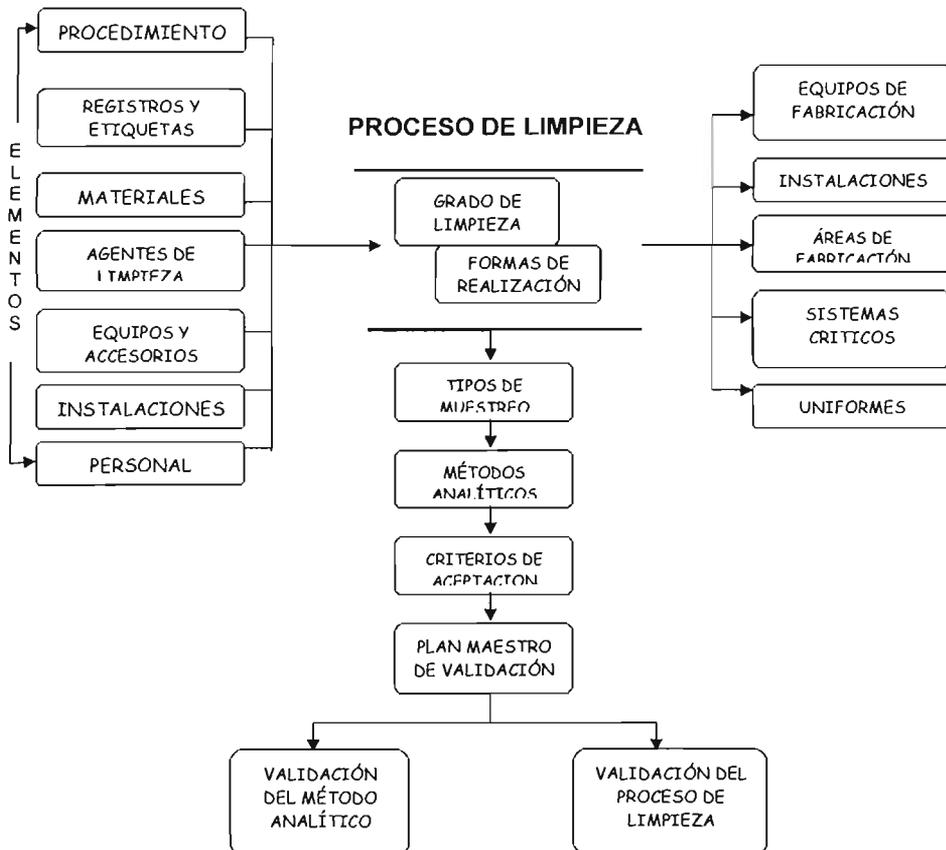


Fig 1 Diagrama general del proceso de limpieza



Grado de limpieza:

El grado de limpieza se determina basándose en la siguiente clasificación:

- b) Minima o menor: Aplica cuando se procesan de manera secuencial lotes del mismo producto, a la misma o diferente concentración, siempre y cuando hayan sido fabricados de menor a mayor concentración.

- b) Normal o Mayor: Aplica cuando se procesan productos diferentes, cuando se concluye la fabricación de un lote y se requiere fabricar otro lote de diferente producto. Se recomienda después de un mantenimiento correctivo o preventivo a equipos y después de haber realizado cinco o el número de limpiezas menores de forma consecutiva, que la empresa determine de acuerdo al tipo de producto o proceso.

- b) Exhaustiva: Aplica cuando proceda una limpieza especial, como después de una remodelación o mantenimiento programado o correctivo.

Forma de realización:

Proceso de limpieza manual: Limpieza que depende en alto grado del operador y de la correcta aplicación del PNO correspondiente, por lo que es de suma importancia que se cuente con la capacitación y calificación correspondiente para llevar a cabo dichos procesos. Es el método de limpieza más utilizado en la industria farmacéutica. Generalmente incluye las siguientes etapas:

1. Desarmado del equipo (sí es necesario)
2. Prelavado – Inspección. Tiene como propósito eliminar residuos de gran tamaño y es usualmente el paso que más depende del operador.



3. Lavado. Lavado de cada pieza en particular utilizando agentes químicos en concentraciones bien definidas. En este paso los residuos materiales se eliminan generalmente por disolución.
4. Enjuague inicial. En este paso se disuelven generalmente la mayoría de los residuos materiales. Es preferible el uso de agua purificada, destilada o grado inyectable, sin embargo el uso de agua potable es válido siempre y cuando se demuestre que esta es suficiente para obtener buenos resultados.
5. Enjuague Final. Es usado para reducir los residuos a su nivel final sin introducir ningún contaminante potencial, por eso debe utilizarse agua de alta calidad, ya sea purificada o grado inyectable.
6. Rearmado (sí es necesario). Las instrucciones de rearmado deben incluirse en el procedimiento normalizado de limpieza.

Limpeza semiautomática: Este tipo de procesos se encuentran automatizados parcialmente y requieren de la intervención de un operador. Entre estos sistemas está el sistema de limpieza en sitio (LES) tales como lavadoras, tanques con bombas, etc., y los de tipo gabinete (con máquinas estacionarias).

Limpeza automática: La intervención del operador solo consiste en la adición en el tanque del agente de limpieza. Los equipos más comunes son sistemas cerrados completamente automáticos (CIP) ^(36,24,30)

2.4 PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN (PNO's) PARA LA LIMPIEZA DE EQUIPOS

Es un documento escrito que describe en forma detallada, clara y secuencial cada uno de los pasos a seguir para llevar a cabo de manera reproducible las operaciones del proceso de limpieza así como las responsabilidades de cada persona involucrada. Los PNO's de limpieza y la capacitación de los operarios



en dichos procedimientos, son un elemento esencial dentro de la validación de limpiezas.

Debe contener como mínimo los siguientes requisitos:

- Título
- Objetivo
- Alcance
- Responsabilidades
- Desarrollo de actividades
- Bibliografía
- Anexos
- Hoja de capacitación sobre dicho PNO

De manera más detallada debe especificarse:

- Nombre del equipo o área
- Diagramas y/o planos del equipo (Indicar el desarmado cuando este aplique) ó área
- Identificación y localización del equipo ó área
- Descripción detallada de los métodos de limpieza:
- Especificar los agentes de limpieza
- Condiciones de preparación y uso
- Materiales y utensilios
- Precauciones:
 - En el manejo de sustancias
 - En el manejo de equipos
- Frecuencia de ejecución:
 - Serial: Lotes del mismo producto
 - No-serial: Lotes de diferentes productos o diferentes concentraciones
- Designación de responsables:
 - Personal previamente capacitado para la limpieza y/o mantenimiento del equipo área o sistema. ^(27,16)



El proyecto de Norma: PROY-NOM-059-SSA1-2003, *Buenas Prácticas de Fabricación para Establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica dedicados a la fabricación de Medicamentos* establece: "Requieren ser validados los procedimientos de limpieza para superficies del equipo que tienen contacto con el producto, así como las áreas".⁽²⁴⁾

2.5 LIMPIEZA Y/O SANITIZACIÓN:

Agentes de limpieza

Los residuos se adhieren a las superficies de equipos y áreas de fabricación por fenómenos físicos que no pueden evitarse. Para eliminar dichos residuos se emplean agentes de limpieza que debe seleccionarse de manera adecuada dependiendo del tipo de proceso de fabricación y del producto. La limpieza es un prerequisite para una sanitización efectiva. La sanitización comienza con un programa efectivo de limpieza ya que la presencia de algunos compuestos orgánicos puede reducir la efectividad de algunos sanitizantes.^(12,16,30)

Existe una gama amplia de agentes de limpieza los cuales, de acuerdo a su estructura química o a su uso comercial, se clasifican en:

a) Clasificación por su estructura química:

- Constructores: polifosfatos, fosfonatos, gluconatos, citratos, EDTA y NTA.
- Surfactantes: Compuestos cuaternarios de amonio.
- Agentes acomplejantes: NTA y EDTA.
- Desespumantes: Etoxilatos de óxido de propileno
- Agentes oxidantes: Hipocloritos
- Inhibidores de la corrosión: Silicatos, carbohidratos modificados y fosfonatos
- Agua: purificada y grado para inyección
- Solventes: Etanol o Isopropanol



b) Clasificación por su uso comercial. Es importante que los agentes de limpieza sean compatibles para evitar la interferencia entre ellos, así mismo considerar su estado físico (sólido, líquido) y forma de uso (contacto directo o diluido). Se debe tener claro qué se quiere limpiar y así mismo qué tipo de agente es el más adecuado. De acuerdo a su uso, se pueden clasificar en:

- Agentes alcalinos: Generalmente contienen agentes secuestrantes, son humectantes, dispersantes y emulsificantes, biodegradables de baja espuma y se usan en superficies brillantes.
- Agentes alcalinos clorados: Son humectantes, secuestrantes y dispersantes, de baja espuma, solubilizan proteínas y azúcares, eliminan grasa y materia prima, trabajan bien incluso a bajas temperaturas.
- Agentes ácidos: Son detergentes concentrados a base de ácido fosfórico, que funcionan como aditivos humectantes e inhibidores de corrosión; Son de baja espuma, algunos son tensoactivos, biodegradables, y se usan para superficies brillantes. ^(10,11)

Sanitización

Sanitización se define como la reducción del número de microorganismos a niveles seguros. Debe ser capaz de reducir el 99.999% de la carga microbiana. Dicha reducción debe realizarse en un tiempo no mayor a 30 segundos.

La limpieza se centrará en el retiro de partículas y la sanitización se centrará en el retiro, destrucción o inactivación de microorganismos.

La selección y preparación de un desinfectante, junto con métodos adecuados de uso y de retiro, son esenciales para alcanzar los niveles de control requeridos.



El desinfectante ideal no existe. Los criterios de selección para los desinfectantes son extremadamente complejos. La "reducción de microorganismos" es generalmente el criterio más importante del proceso de selección.

El modo de acción de los desinfectantes se dirige generalmente a la proteína de las células. Básicamente, cuando un desinfectante reacciona con la proteína de una célula, se interrumpe el metabolismo y se destruye la integridad celular provocando la muerte de la célula. El mecanismo exacto dependerá del agente activo de cada desinfectante, por ejemplo:

- a) Alcoholes: Los dos alcoholes más comunes usados como desinfectantes son isopropanol y etanol. La eficacia de estos solventes orgánicos se basa en su capacidad de extraer lípidos de la membrana de la célula.
- b) Detergentes: Los detergentes son compuestos cuaternarios de amonio que interrumpen la interacción entre la proteína y los lípidos en membranas de la célula, de tal modo que causan la desintegración eventual de la membrana.
- c) Halógeno: Los halógenos son fuertes agentes oxidantes que causan la destrucción de la proteína celular oxidando a grupos sulfhidrilo a SO_2 . Ejemplos típicos de halógenos son hipoclorito, yodo y bromo.
- d) Fenólicos a bajas concentraciones: estos compuestos causan una interrupción de la función de la membrana de la célula, causando la salida del contenido celular. Estos compuestos son altamente tóxicos^(12,16)



Selección del sanitizante

La selección del sanitizante es un paso crítico en el desarrollo de la validación de limpieza. La guía de 1993 de la FDA *Inspección de la validación de procedimientos de limpieza* establece: "Al igual que con los residuos de productos, es importante y es de esperar que el fabricante evalúe la eficiencia del proceso de limpieza para la eliminación de los residuos" (7,12)

Las ocho propiedades siguientes deben ser consideradas al seleccionar sanitizantes:

1. Limpieza: libre de organismos microbianos y bajo contenido de partículas.
2. Corrosión: La formulación debe tener un efecto mínimo en el aspecto y la integridad funcional de las superficies con las cuales entra en contacto. Se deben probar la compatibilidad con las superficies antes del uso de los desinfectantes. El equipo de proceso, los componentes electrónicos, y los sensores se deben considerar en la selección y el uso del desinfectante.
3. Actividad residual: Esto es el tiempo que puede estar un desinfectante en una superficie. Los requisitos de proceso específicos pueden dictar el retiro de los residuos. Las instrucciones del fabricante se deben repasar para el retiro de residuos.
4. Estabilidad. Esto se refiere a:
 - a. Vida útil como solución concentrada y diluida.
 - b. Reacción en presencia de materia orgánica. Algunos desinfectantes pueden ser inactivados al entrar en contacto con compuestos orgánicos.



5. Contaminación iónica: Si el sanitizante se utiliza en algún equipo electrónico, los sanitizantes que contienen sodio, potasio, cloruros etc., deben ser evitados, porque estos elementos pueden destruir los dispositivos electrónicos.
6. Olor: Esto varía dependiendo de la composición química o de la fórmula y puede ser desagradable para el personal.
7. Eficacia: No todos los sanitizantes son igualmente eficaces contra todas las formas de biocontaminación.
8. Compatibilidad del producto: El agente de limpieza no debe crear una reacción con el producto. ^(10,12,16,30)

Posteriores a los procedimientos de limpieza, los equipos deben ser sometidos a procedimientos de sanitización ya que al trabajar en sistemas no estériles existen condiciones favorables para la proliferación microbiana, tales como: humedad, temperatura, grietas y superficies ásperas. Es muy importante que en los procedimientos de limpieza se incluya las condiciones de almacenaje del equipo antes de la limpieza, y el tiempo entre limpieza y reutilización del equipo, con el fin de limitar la proliferación microbiana.

Los procedimientos de sanitización están más allá del alcance de este trabajo pero es importante hacer notar que el control de la carga microbiana a través de una adecuada limpieza y almacenamiento del equipo es importante para asegurar la calidad del producto. Aunado a esto al hacer nuestra evaluación de limpieza, no solamente nos limitamos a trazas del principio activo, sino también a trazas de agentes de limpieza y sanitizantes sobre todo cuando se utilizan métodos de análisis no específicos tales como el TOC.



2.6 VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

Se define como la evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza aprobado para las áreas y equipos usados en la fabricación de medicamentos, reduce a un nivel aceptable los residuos (agentes de limpieza y productos procesados), además de asegurar que no existe ningún riesgo de contaminación cruzada, principalmente de principios activos.

La validación de la limpieza debe realizarse con el fin de confirmar la efectividad de un procedimiento o método de limpieza. Un programa de validación de limpieza completo debe incluir la identificación de los elementos de limpieza, la definición del alcance de la prueba y los límites aceptables, el desarrollo del procedimiento de muestreo y prueba, así como el diseño de un proceso de validación de limpieza y un método de análisis de datos. ^(36, 21,24, 2)

2.7 EVALUACIÓN DE LIMPIEZA

2.7.1 Selección del producto para análisis de limpieza (peor caso)

Los procesos de limpieza de equipos donde se fabrican varios productos requieren ser validados, pero se necesitaría un gran esfuerzo para validar todos esos productos, para reducir al mínimo la cantidad de validaciones requeridas, se puede utilizar el "peor caso" (Worst Case) el cual se selecciona por medio de una matriz de productos. Esta selección puede estar basada en la solubilidad, dificultad de limpieza, concentración y/o toxicidad. ^(24,25,5)

La selección del "peor caso" es muy importante, ya que apoyará la conclusión de que los procedimientos de limpieza para ese producto son efectivos para todos los excipientes del medicamento, los agentes de limpieza y los otros productos de su mismo grupo que no se validaron individualmente.



El objetivo de elaborar una matriz de selección de productos, es que la compañía demuestre que tiene fundamentos científicos de que el producto seleccionado como el “peor caso” es representativo para la validación del proceso de limpieza de los demás productos que pertenecen a su grupo.

El primer paso es hacer grupos y subgrupos de productos de los cuales se seleccionara el “peor caso”. El procedimiento de agrupación y selección se debe incluir en las políticas de la compañía, en un PNO o en un documento equivalente para la validación de limpieza.

Antes de elaborar la matriz, se tendrá que recaudar toda la información necesaria no sólo de la literatura (solubilidad y toxicidad), sino también de encuestas a los operarios (dificultad para limpiar) o por medio de cálculos matemáticos (criterio de aceptación).

El primer paso para elaborar la matriz es seleccionar los equipos que se van a validar y los productos que se fabrican en ellos. Posteriormente se revisa la clase de limpieza (manual, automática o semiautomática) en los PNO's de limpieza para cada equipo, con esta información se forman grupos de productos para cada equipo y de aquí se forman subgrupos dependiendo de los siguientes criterios:

a) Dificultad para limpiar: experiencia de producción

Un criterio que puede utilizarse es la experiencia de producción para indicar el producto que es más difícil de limpiar. El estudio se realiza en forma de entrevistas a los operadores y supervisores. Puede utilizarse una hoja estandarizada con las preguntas en las cuales se observen las respuestas. Se identifican las sustancias difíciles de limpiar y la dificultad de la limpieza podría



ser clasificada según las tres categorías sugeridas abajo. Las opiniones del personal son subjetivas y por lo tanto no hay fundamento científico.

Categoría:

1 = Fácil

2 = Media

3 = Difícil

b) Solubilidad

Una clasificación de solubilidad debe basarse en las solubilidades de los principios activos en los disolventes usados para la limpieza. La clasificación se presenta en la siguiente tabla:

GRUPO	TÉRMINOS	CANTIDAD APROXIMADA DE DISOLVENTE EN VOLUMEN POR UNA PARTE DE SUSTANCIA EN MASA
1	Muy soluble Fácilmente soluble	Menos de una parte De 1 a 10 partes
2	Soluble Poco soluble	De 11 a 30 partes De 31 a 100 partes
3	Ligeramente soluble Muy ligeramente soluble Casi insoluble	De 101 a 1000 partes De 1001 a 10000 partes Mas de 10 000 partes

TABLA 1. - Clasificación de principios activos por sus características de solubilidad
Referencia USP 24 (descripción y solubilidad, 2254), página 53

c) Toxicidad

Se debe incluir una evaluación y clasificación de la toxicidad de los principios activos y los disolventes utilizados para la validación de limpieza. Una posible clasificación numérica con fundamentos científicos es la siguiente.



Grupo	Términos	Probable dosis letal oral para humanos (mg/Kg)
1	Prácticamente no Tóxica Ligeramente Tóxica	> 15 000 5 000 – 15 000
2	Moderadamente Tóxica	500 – 5 000
3	Muy Tóxica	50 – 500
4	Demasiado Tóxica	5 – 50
5	Excesivamente Tóxica	< 5

TABLA 2. - Clasificación de principios activos por sus características de Toxicidad Casarett, Doulls; Toxicology – The basic Science of Poison; Ed.2; 1980. página 53

d) Dosis Terapéutica

Se debe hacer una investigación sobre la dosis terapéutica oral. En los casos donde no estén disponibles los valores de dosis terapéutica, podrían utilizarse los valores basados en la toxicidad. Una posible clasificación numérica con fundamentos científicos es la siguiente.

Grupo	Intervalo de dosis (dosis terapéutica mínima)
1	> 1000 mg
2	100 – 1000 mg
3	10 – 99 mg
4	1 – 9 mg
5	< 1 mg

TABLA 3. - Clasificación de principios activos por dosis terapéutica ⁽³⁾



e) Límite de detección visual

Los criterios de aceptación para principios activos se deben calcular según procedimientos de la compañía. Para la elaboración de la matriz de productos, se puede considerar la siguiente clasificación.

Grupo	Términos	Fundamento
1	Límite alto	Muy probablemente se detecta en los equipos por evaluación visual
2	Límite moderadamente alto	Probablemente se detecta en los equipos por evaluación visual
3	Límite moderadamente bajo	Hay posibilidades de detectarlo en los equipos por evaluación visual
4	Límite bajo	Probablemente no se detecta en los equipos por evaluación visual
5	Límite muy bajo	Es imposible detectarlo en los equipos por evaluación visual

TABLA 4. – Clasificación de principios activos por detección visual⁽³⁾

f) Otros fundamentos científicos

La compañía puede utilizar cualquier otro criterio, siempre y cuando cuente con fundamentos científicos.

La selección del peor caso se basará inicialmente en la toxicidad del principio activo y su solubilidad, lo ideal es que sólo se seleccione un peor caso, sin embargo, lo más probable es que se tengan que evaluar una serie de residuos. Por ejemplo, cuando un producto es muy difícil de limpiar según la experiencia del operador pero no es necesariamente el más tóxico, en este caso sería prudente validar el procedimiento de limpieza de este producto y documentar las razones por las que se incluye al programa de validación. ^(2, 3,5)



Cualquier producto nuevo incorporado al programa de producción de la empresa se debe evaluar y agregar a la matriz correspondiente, este producto deberá ser comparado con los productos de la matriz ya existente para determinar lo siguiente:

- a) Si el nuevo producto no es el peor caso, entonces no se requieren las actividades de revalidación. Se mantiene el estado validado de la matriz de validación de limpieza.
- b) Si se determina que el nuevo producto es el peor caso, se requieren actividades de revalidación para restablecer el estado validado de la matriz de validación de limpieza.
- c) La evaluación debe ser documentada y ser aprobada. ⁽³¹⁾

2.7.2 Equipos y selección de puntos de muestreo

Un elemento crítico en la fabricación de un medicamento es el equipo de la planta farmacéutica y es común que este sea compartido en la fabricación de varios productos, por lo que su superficie puede ser una fuente de contaminación cruzada de residuos cuando un proceso de limpieza no es confiable.

El equipo de fabricación debe ser diseñado, construido, localizado y mantenido de manera tal que:

- a) Sea apropiado para el uso que se pretende
- b) Facilite una limpieza profunda
- c) Minimice los riesgos de contaminación de productos y contenedores durante la producción



-
- d) Facilite una operación eficiente y debe ser aplicable, validada y confiable
 - e) Deben estar constituidos de tal forma que el montaje y desmontaje de sus partes sea sencillo y práctico, que las superficies en contacto con los componentes de la formulación, material de proceso o los productos, no reaccionen alterando la seguridad, identidad, potencia, calidad o pureza del producto.

En la mayoría de las compañías farmacéuticas se utilizan equipos de uso múltiple para la fabricación de sus productos. Este tipo de uso es satisfactorio siempre y cuando el equipo pueda limpiarse de manera adecuada de acuerdo con los procedimientos escritos. Hay residuos muy tóxicos o que no pueden ser removidos de manera fácil; en estos casos se deberán utilizar equipos dedicados únicamente para la fabricación de esos productos.

El equipo y los utensilios deben limpiarse y mantenerse limpios a intervalos apropiados para prevenir el mal funcionamiento o contaminación que pueda alterar la calidad del producto.

Para la selección de los puntos de muestreo de equipos se deberán determinar los sitios críticos. Un sitio crítico es un área o pieza de un equipo en el cual el residuo es concentrado o atrapado, debido por ejemplo a la ubicación, área, diseño del equipo, y todo aquello que pueda contribuir a una contaminación cruzada.

Para el muestreo de las áreas de producción se deberán seleccionar los sitios críticos, principalmente se deben tomar en consideración los sitios más difíciles de limpiar, los más difíciles de secar, con materiales de construcción diferente (cristal, plástico, goma), con partes con alta exposición al producto (aspas, válvulas, drenajes) y las áreas de difícil acceso, tales como: rincones, parte superior de las puertas, esquinas, rejillas, tubos, tapas de conexiones, etc.



Una herramienta importante para la selección de los puntos de muestreo, son los operadores, ya que al ser ellos los que realizan la limpieza de los equipos y áreas, saben en que puntos o que partes son más difíciles de limpiar o hay mayor acumulación del producto, por lo que se deberá hacer una encuesta con un formato establecido.

2.8 MÉTODOS DE MUESTREO

2.8.1 Tipos de muestreo

Un método de validación de limpieza puede incluir diversas técnicas de muestreo para asegurar la efectividad del proceso de limpieza. El método de muestreo debe acoplarse al equipo que se limpia y al objetivo de la validación de limpieza.

TÉCNICAS	DESCRIPCION
Inspección visual	Cualitativo, subjetivo
Muestreo y análisis de agua de enjuague	Cuantitativo
Hisopos para muestreo y análisis de superficie	Cuantitativo, retira adherentes, área de la muestra definida

Tabla 5.- Técnicas de muestreo comunes utilizadas en la validación de procesos de limpieza⁽³¹⁾

La guía de 1993 de la FDA establece que: "Hay dos tipos generales de muestreo que han sido encontradas como aceptables. El más deseable es el método directo de muestreo de superficies del equipo. Otro método es el uso de soluciones de enjuague". El muestreo de agua de enjuague es más útil en el análisis de un área de superficie grande o de áreas inaccesibles, mientras que el uso de hisopo (un método directo) puede remover contaminantes que pudieran adherirse a las superficies, incluso después del enjuague. La técnica



del hisopo involucra típicamente la humectación de un hisopo de poliéster con agua purificada para limpiar un área medida de manera sistemática ^(31,14)

Muestreo con Hisopo: Las muestras son tomadas al azar en un área definida que esté en contacto con el producto (comúnmente 25 cm²). Los hisopos utilizados para este fin deben tener la característica de estar preparados con materiales inertes que no generen interferencias. Para este método debe determinarse el porcentaje de recobro del método de extracción y la efectividad del hisopo para recuperar residuos.

Muestreo por enjuague: Involucra el uso de un volumen conocido de agua para enjuagar el área de superficie del equipo. En el agua de enjuague debe determinarse la cantidad de residuos. El volumen empleado deberá ser el mismo.

Existen otros métodos para determinar el nivel de concentración de contaminación tales como: producto placebo o análisis del lote siguiente, pero casi no son utilizados en la validación de procesos de limpieza por tener un costo alto o, en el caso del método del producto placebo, existen argumentos por la FDA que indican que el placebo tiende a diluir el contaminante hasta un punto en el que resultaría difícil detectarlo.

En la mayoría de los equipos que se emplean para la fabricación de productos no estériles sus superficies son accesibles, por lo que el muestreo se hace con hisopo, además de ser el método preferido por FDA. Algunas de las ventajas y limitaciones de los métodos de muestreo más utilizados se presentan en la siguiente tabla:



TIPO DE MUESTREO	VENTAJAS	LIMITACIONES
MUESTREO CON HISOPO O SIMILAR	<ul style="list-style-type: none">- Disuelve y físicamente remueve el residuo- Adaptable a una gran variedad de superficies- Fácil y económico- Permite el muestreo de un área definida- Aplicable a una gran variedad de residuos (activos, agentes de limpieza, materias primas, microorganismos, entre otros)	<ul style="list-style-type: none">- Invasivo- Materiales del hisopo o del paño pueden interferir en la determinación analítica- El recobro del residuo en la superficie no es total- No permite evaluar la limpieza en tuberías, válvulas o sitios de difícil acceso- Métodos analíticos de mayor sensibilidad
MUESTREO POR ENJUAGUE	<ul style="list-style-type: none">- Adaptable a tuberías o ductos en sistemas cerrados- Fácil muestreo- No invasivo- Fácil aplicación- Aplica a sustancias activas, excipientes y agentes de limpieza)- Permite muestrear una mayor área- Permite el muestreo de superficies porosas	<ul style="list-style-type: none">- En ciertos casos mayor sensibilidad del método analítico- No representativo si el reactivo no se encuentra homogéneamente distribuido- Aplica a componentes o equipos mayores

Tabla 6.- Tipos de muestreo utilizados para la validación de limpieza.
Referencia, Guía CIPAM. Guía de validación de métodos analíticos: limpieza de equipos.



2.9 MÉTODOS ANALÍTICOS

Con el fin de evitar que estén presentes residuos o trazas de productos farmacéuticos fabricados previos al siguiente lote por fabricar, surge la necesidad de desarrollar y validar técnicas analíticas sensibles y confiables para cuantificar trazas de activos que son indicativos del grado de limpieza del equipo y área de fabricación después de su uso.

Un método analítico es la descripción de la secuencia de actividades, recursos materiales y parámetros que se deben cumplir para llevar a cabo el análisis o determinación de un componente específico (residuo) de la muestra (superficie de equipo después de haber llevado a cabo la limpieza del equipo).

Un residuo es un componente específico a medir en una muestra y como todo proceso de medición, debe ser confiable para ser utilizado con un propósito definido. Para demostrar con estudios de laboratorio que la capacidad del método satisface los requisitos para las aplicaciones analíticas deseadas tiene que ser validado.

Con las ventajas de la tecnología analítica es posible detectar residuos del proceso de fabricación y de limpieza, aún si se encuentran a bajas concentraciones. Debe existir una relación estrecha entre los límites de residuos y el método empleado para verificar la limpieza del equipo. Los métodos analíticos a ser utilizados, deben poseer la sensibilidad para detectar a los residuos o contaminantes. El límite de detección de cada método analítico debe ser suficientemente sensible para detectar el nivel aceptable del residuo o del contaminante y deben alcanzar un nivel de recobro establecido. ^(7, 17,28)



Se dispone de una variedad de métodos analíticos para usarse en la validación de la limpieza, incluyendo la cromatografía de líquidos de alta resolución (CLAR), conductividad, cromatografía iónica, pH, TOC, e incluso análisis visual.

Cada técnica tiene ventajas y desventajas, sin embargo, para las matrices solubles en agua, casi cualquier compuesto residual puede ser detectado si se utilizan las siguientes pruebas analíticas no específicas para una validación de limpieza: TOC (para características carbón/orgánicas), pH (para características ácido/base) y conductividad (para características iónicas). Esta combinación de métodos puede identificar contaminantes de diferentes orígenes, incluyendo aguas de proceso, ingredientes activos, excipientes y agentes de limpieza.

Los métodos comúnmente usados para la validación de la limpieza y tipo de residuos para los cuales se aplica son:

METODO	RESIDUO DE PRINCIPIO ACTIVO	EXCIPIENTE	AGENTE DE LIMPIEZA	BIOFARMACEUTICO
HPLC	•	•		•
TLC	•	•		
Espectrofotométrico	•	•		•
TOC	•	•	•	•
Elisa				•
Electroforesis				•
pH			•	
Conductividad			•	
Gravimetría		•	•	

TABLA 7 Métodos comúnmente usados para la validación de limpieza y tipo de residuos para los cuales se aplican. ⁽¹⁶⁾

En la siguiente tabla encontraremos algunas ventajas y desventajas de los métodos más comúnmente usados.



MÉTODO	VENTAJA	DESVENTAJA
HPLC o Cromatografía de Líquidos de alta resolución	Alta sensibilidad y especificidad, Cuantitativo	Muy costoso Tiempo largo de análisis
CG o Cromatografía de Gases	Alta sensibilidad y especificidad, Cuantitativo	Costoso, Sólo para análisis volátiles, Tiempo largo de análisis
HPTLC o Cromatografía en Capa Fina de alta resolución acoplada con densitometría	Alta sensibilidad, Alta especificidad, Detección cuantitativa	Preparación laboriosa de la muestra
TLC o Cromatografía en Capa fina	Alta sensibilidad, Alta especificidad, Relativamente barato	Preparación laboriosa de la muestra, Detección visual, no cuantitativa
Espectrofotometría	Cuantitativo	Sensibilidad moderada, No específico
TOC o análisis de Carbono Orgánico Total	Amplio espectro, Preparación mínima de la muestra, Capacidad en línea Detección a muy bajos niveles, sensible	No específico, Solo para muestras solubles en agua
ELISA	Específico para biofarmacéuticos. Muy sensible	Muy costoso, Problemas con la desnaturalización de las proteínas, Muy laborioso
Electroforesis	Específico para biofarmacéuticos. Moderadamente sensible	Muy costoso, Problemas con la desnaturalización de las proteínas, Muy laborioso
pH	Rápido, barato	No específico, sensibilidad limitada
Conductividad	Rápido, barato	No específico, sensibilidad limitada
Detección Visual	Resultados inmediatos	No cuantitativo, subjetivo

TABLA 8. - Ventajas y Desventajas de los métodos analíticos más comunes empleados en la validación de limpieza.



La compañía debe desafiar el método analítico en combinación con el (los) método(s) de muestreo utilizado(s) para demostrar que los contaminantes pueden ser recuperados de la superficie del equipo y a que nivel, por ejemplo 50% de recuperación, 90%, etc. Esto es necesario antes de que se pueda llegar a cualquier conclusión basada en los resultados de la muestra.

Cada compañía debe seleccionar el método analítico que más le convenga, dependiendo principalmente de las características del principio activo seleccionado como el peor caso, los criterios de aceptación establecidos y las ventajas y desventajas que cada método ofrece. Lo importante es que dependiendo del método o métodos analíticos seleccionados, estos deben ser validados antes de llevar a cabo la validación del proceso de limpieza.

2.9.1 Carbono Orgánico Total (TOC)

Jenkins et al. encontraron un fuerte soporte para el uso del análisis TOC en la validación de la limpieza, estableciendo que "el TOC tiene una detección de niveles bajos, un tiempo de análisis rápido, es de bajo costo comparado con otros métodos y puede detectar todos los residuos con una base de carbón". Ellos compararon el TOC, CLAR, cromatografía en capa delgada, espectrofotometría (UV), pH, conductividad y análisis visual, y encontraron que el análisis TOC se comportaba tan bien o mejor que los métodos por CLAR o Espectrofotométricos. ⁽⁷⁾

El análisis de carbono orgánico total (TOC) es una técnica analítica rápida y efectiva para la validación de limpieza en la manufactura farmacéutica.



Este método no específico puede ser utilizado para analizar los residuos de productos manufacturados previamente, los detergentes de limpieza, los químicos, solventes, subproductos, degradantes y contaminantes microbianos. Sin embargo, deben considerarse muchos factores antes de implementar un programa de validación de limpieza con TOC, incluyendo: la selección del detergente, el establecimiento de los criterios de aceptación del TOC y la selección de la diversidad de las tecnologías TOC disponibles.

Principios del análisis TOC (Carbono Orgánico Total)

El análisis de Carbono Orgánico Total (TOC) es un método analítico que consiste en la medición indirecta de moléculas orgánicas en disolución o suspendidas medidas como dióxido de carbono (CO_2). El método es muy simple, una muestra sólida o líquida se oxida y la muestra se convierte en agua y CO_2 .

Capacidades de la metodología TOC

Las aplicaciones de la validación de limpieza deben lograr una determinación exacta de bajo nivel de TOC (que vayan de <50 ppbC a 5 ppmC o más) mientras que aseguran una apropiada recuperación del analito. Una vez que se determina con criterios aceptables el analito blanco o el compuesto del peor caso, se identifica la oxidación apropiada y el esquema de detección para el análisis TOC. Las tecnologías de oxidación más comunes del TOC incluyen UV, UV-persulfato y combustión a altas temperaturas (HTC), mientras que los métodos de detección incluyen infrarrojo no dispersivo (NDIR) y detección de conductividad.



Técnicas de oxidación

Para el análisis TOC de agua ultra pura y validación de limpieza se utilizan comúnmente tres técnicas:

- a) Oxidación UV: utiliza radiación UV para oxidar los orgánicos presentes en la muestra, es ideal para el análisis TOC de agua purificada y agua para inyectables (WFI) aunque típicamente no es lo suficientemente fuerte para las matrices que contienen carbón encontrado en la mayoría de las aplicaciones de validación de limpieza.
- b) Oxidación con UV- persulfato: combina la radiación UV y un reactivo de persulfato para aumentar sustancialmente la eficiencia de la oxidación. Es una técnica suficientemente poderosa para casi todas las necesidades de validación de limpieza, comportándose incluso bien para el agua con nivel TOC ultra bajo.
- c) Oxidación HTC: oxida la muestra calentándola a 680 – 1000 °C, es suficientemente fuerte para la oxidación completa de la muestra ideal para emplearse en procesos de limpieza, no es ideal para el análisis TOC de bajo nivel debido al elevado y altamente variable ambiente de TOC presente en este método en comparación con la respuesta típica de la muestra.

Esquema de detección TOC

La selección de un sistema de detección TOC es tan importante como la selección de un método de oxidación. Las dos tecnologías básicas son:



- a) Detectores de Conductividad: Funcionan midiendo la conductividad de la muestra antes y después de ser oxidados y atribuyendo la diferencia al TOC en la muestra. La detección de la conductividad es adecuada para el agua purificada y las aplicaciones para agua grado inyectable, pero el método tiene varios inconvenientes en la aplicación de validación de limpiezas. Las mediciones de conductividad > 50 ppbC de la muestra varían con las especies presentes que contienen carbón y pueden llevar a errores significativos.
- b) Detección por infrarrojo no dispersivo (NDIR): Ofrece un método más práctico, sin interferencia para detectar CO₂ en el análisis TOC. Los NDIRs miden el CO₂ generado por oxidación del carbón orgánico en la fase gaseosa y son por lo tanto inmunes a los efectos de interferencia de otros compuestos de la solución de prueba. En la mayoría de los casos no se requiere de tiempo para recuperarse de una muestra con un TOC alto, lo cual permite análisis de TOC más rápidos y de mayor productividad. Los tiempos típicos de corrida para el análisis TOC por duplicado pueden ser tan pequeños como 10 minutos. Estos ahorros en tiempo pueden traducirse en validaciones de la limpieza del proceso de manufactura más rápidas y en un incremento de la productividad.

Tipos de carbono.

Hay dos tipos de carbono presentes en el agua: carbono orgánico y carbono inorgánico. El carbono orgánico (TOC) son todas las formas de carbono orgánico disueltas o suspendidas en agua. El carbono inorgánico (IC o TIC) es el carbono proveniente de la disolución de carbonatos (CO₃), bicarbonatos (HCO₃) y del CO₂ ambiental. El carbono Total (TC) es la suma de todas las especies de carbono orgánico e inorgánico.



El Carbono Orgánico Purgable (POC) es un componente del TOC que se libera al purgar la muestra con aire y el Carbono Orgánico No Purgable (NPOC) es el componente del TOC que no se libera al purgar la muestra con aire.

Funcionamiento del equipo

El equipo que se utilizará en el presente trabajo es el TOC-V CPH marca SHIMADZU, el cual es un analizador elemental con capacidad de medición independiente de carbono total (TC), carbono orgánico total (TOC), y carbono inorgánico (IC) en agua. Este equipo mide el CO₂ producido por la combustión a altas temperaturas y tiene un detector de tipo NDIR que proporciona picos angostos como resultado de la conversión instantánea de todos los compuestos de carbón en CO₂ y emplea el área del pico para llevar a cabo la cuantificación.

La medición de TC (Carbono Total) se realiza de la siguiente manera:

1. - Se introduce la muestra en el tubo de combustión (TC) que se llena de un catalizador oxidante y se calienta a 680 ° C.
2. - La muestra se quema en el tubo de combustión y, consecuentemente, los componentes del TC en la muestra se convierten en bióxido de carbono.
- 3-. El gas transportador (aire comprimido ultra seco y ultra puro), que fluye a una velocidad de 150mL/min al tubo de combustión, lleva los productos de la combustión de la muestra del tubo de combustión a un deshumidificador electrónico, donde el gas se enfría y deshidrata.
4. - El gas entonces lleva los productos de la combustión de la muestra a través de un depurador del halógeno para remover el cloro y otros halógenos.



5. - Finalmente, el gas portador entrega los productos de la combustión de la muestra a la celda de un analizador de gas infrarrojo no-dispersivo (NDIR), donde se detecta el bióxido de carbono.
6. - El NDIR hace salir una señal análoga del detector en forma de pico; el área máxima es medida por el software del TOC-Control V.

Medición de IC (Carbono Inorgánico)

El carbono en forma de carbonatos y bicarbonatos pueden ser medidas como IC de la siguiente manera:

La muestra se introduce vía el inyector de muestras dentro del vaso de reacción IC (que contiene ácido fosfórico), a través del cual el gas acarreador fluye en forma de diminutas burbujas. Solo el componente IC en la muestra se descompone hasta CO₂ el cual se detecta al llegar al NDIR. La concentración de IC se determina en la misma forma que el TC, con excepción de que se usa una curva de calibración de IC para determinar la concentración de la muestra.

Medición de TOC (Carbono Orgánico Total)

La concentración de TOC puede determinarse por sustracción de la concentración de IC de la concentración de TC. Esta sustracción se realiza por el equipo y se reporta como valor de TOC. Este método no es recomendable para muestras que contienen más IC que TC

$$\text{Carbono Orgánico Total} = \text{Carbono Total} - \text{Carbono Inorgánico}$$

$$\text{TOC} = \text{TC} - \text{IC}$$



Medición de NPOC (Carbono Orgánico No Purgable)

La concentración de TOC puede ser determinada directamente, usando otro procedimiento. En este caso, la muestra se acidifica previamente y se burbujea automáticamente con aire comprimido de alta pureza para remover el IC que contiene. La muestra se analiza para obtener la concentración de TC. Este método también es referido como el método de NPOC. No es recomendable para compuestos que producen espuma durante su agitación. Este método es el más recomendable cuando las cantidades de IC son mayores a las de TC.

Los compuestos orgánicos volátiles tales como solventes orgánicos, los cuales no son realmente solubles en agua, se eliminan de la muestra a temperatura ambiente vía burbujeo obteniendo Carbono Orgánico Purgable (POC).

$$\text{TOC} = \text{Carbono Orgánico Purgable} + \text{Carbono Orgánico No Purgable}$$

$$\text{TOC} = \text{POC} + \text{NPOC}$$

$$\text{TOC} = \text{Carbono Orgánico No Purgable}$$

$$\text{TOC} = \text{NPOC}$$

El método que se utilizará para medir el TOC de las muestras, es el método TC-IC. A continuación se presenta el esquema del diagrama de flujo.

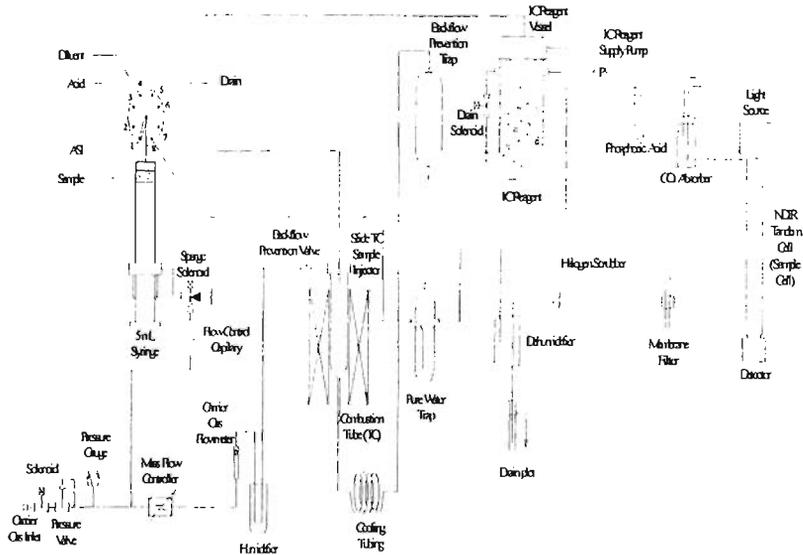


Fig. 2 Diagrama del flujo (TOC – VcPH)

2.10 PRUEBAS ESTADÍSTICAS

Para el análisis de datos de los parámetros seleccionados para la validación del método analítico, se emplean herramientas estadísticas como la regresión lineal simple.

Regresión lineal simple

Es un método de análisis de datos que sirve para poner en evidencia las relaciones que existen entre diversas variables. Tiene como objeto estudiar cómo los cambios en una variable no aleatoria, afectan a una variable aleatoria, en el caso de existir una relación funcional entre ambas variables que puede ser establecida por una expresión lineal, es decir, su representación gráfica es una



línea recta. Cuando la relación lineal concierne al valor medio o esperado de la variable aleatoria, se trata de un modelo de regresión lineal simple. La respuesta aleatoria al valor x de la variable controlada se designa por Y_x y, según lo establecido, se tendrá:

$$E(Y_x) = \mu_x = \alpha + \beta x$$

donde α y β son los coeficientes de regresión

Medidas de dispersión

Son aquellas medidas que indican la distancia de los valores de la variable de un cierto valor central, o que permiten identificar la concentración de los datos en un cierto sector del recorrido de la variable. Se trata de coeficiente para variables cuantitativas. Las medidas de dispersión utilizadas principalmente son:

Media aritmética: La media aritmética de n valores, es igual a la suma de todos ellos dividida entre n .

$$\bar{x} = \frac{\sum x}{n}$$

Desviación estándar: Es la raíz cuadrada de los cuadrados de las desviaciones de los valores de la variable respecto a su media.

$$S = \frac{\sqrt{\sum (x - \bar{x})^2}}{N} \quad \begin{array}{l} \text{datos no} \\ \text{agrupados} \end{array}$$

$$S = \frac{\sqrt{\sum f(x - \bar{x})^2}}{N} \quad \begin{array}{l} \text{datos} \\ \text{agrupados} \end{array}$$



La desviación estándar sólo puede utilizarse en el caso de que las observaciones se hayan medido con escalas de intervalos o razones.

A mayor valor del coeficiente de desviación estándar, mayor dispersión de los datos con respecto a su media. Es un valor que representa los promedios de todas las diferencias individuales de las observaciones respecto a un punto de referencia común, que es la media aritmética. Se entiende entonces que cuando este valor es más pequeño, las diferencias de los valores respecto a la media, es decir, los desvíos, son menores y, por lo tanto, el grupo de observaciones es más "homogéneo" que si el valor de la desviación estándar fuera más grande. O sea que a menor dispersión mayor homogeneidad y a mayor dispersión, menor homogeneidad.

Coefficiente de variación: Para comparar la dispersión de variables que aparecen en unidades diferentes (metros, kilos, etc.) o que corresponden a poblaciones extremadamente desiguales, es necesario disponer de una medida de variabilidad que no dependa de las unidades o del tamaño de los datos. Este coeficiente únicamente sirve para comparar las dispersiones de variables correspondientes a escalas de razón.

$$CV = \frac{s}{\bar{x}}$$

A menor coeficiente de variación consideraremos que la distribución de la variable medida es más homogénea. Es por tanto una medida de dispersión relativa y se suele expresar en tanto por ciento.



Técnicas Estadísticas.

Análisis de varianza (ANOVA): es una de las técnicas más utilizadas en los análisis de datos de los diseños experimentales. Se utiliza cuando queremos contrastar más de dos medias.

El ANOVA es un método muy flexible que permite construir modelos estadísticos para el análisis de los datos experimentales cuyo valor ha sido constatado en muy diversas circunstancias. Básicamente es un procedimiento que permite dividir la varianza de la variable dependiente en dos o más componentes, cada uno de los cuales puede ser atribuido a una fuente (variable o factor) identificable.

Los modelos que permite construir el ANOVA pueden ser reducidos a la siguiente forma:

$$(\text{Valor observado}) = (\text{efectos atribuibles}) + (\text{efectos no atribuibles o residuales})$$

El valor observado se refiere al que se obtiene en la variable cuantitativa dependiente. Los efectos atribuibles son parámetros o variables aleatorias que son el resultado de cambios en los factores o variables independientes y, por tanto, atribuibles a ellos. Aquellos efectos no atribuibles a ningún factor controlado se denominan efectos residuales o variables aleatorias residuales.

El ANOVA está basado en ciertos supuestos, unos más plausibles que otros, acerca de dichas variables aleatorias. Es evidente que cuantos más factores introduzcamos menos cantidad de variación residual (error) quedará por explicar. Pero siempre quedará alguna variación residual. Los supuestos en los que está basado respecto a la variación residual se resumen en los siguientes:



1. El valor esperado de cada variable aleatoria residual es cero.
2. Las variables aleatorias residuales son mutuamente independientes.
3. Todas las variables aleatorias residuales tienen la misma desviación típica
4. Toda variable aleatoria residual se distribuye normalmente.

Los modelos se clasifican en:

a) **Número de factores:** Aquellos experimentos que utilizan una sola variable independiente o factor y una variable dependiente se analizan mediante varianza llamado de un factor, de clasificación simple. Se trata de comparar grupos o muestras que difieren sistemáticamente en un solo factor. Si varios grupos o muestras se asignan a diferentes combinaciones de dos factores, el ANOVA correspondiente es llamado de dos factores, de clasificación doble. Se trata de comparar grupos o muestras que difieren sistemáticamente en dos factores. Y así sucesivamente.

b) **Muestreo de niveles:** Si se toman K niveles del factor, a cada uno se asignan las muestras y las inferencias se refieren exclusivamente a los K niveles y no a otros que podrían haber sido incluidos, el ANOVA se llama de efectos fijos, sistemático o paramétrico. El interés del diseño se centra en saber si esos niveles concretos difieren entre sí. En el modelo de un factor de efectos fijos, las hipótesis a contrastar consideran k situaciones experimentales analizadas sobre una variable respuesta Y :

$$\begin{cases} H_0 : \mu_1 = \mu_2 = \dots = \mu_k \\ H_1 : \text{al menos dos difieren} \end{cases}$$

donde μ_i , $i=1,2,\dots,k$; representan los valores medios de la variable respuesta, Y, en las k situaciones experimentales, respectivamente.



Cuando los niveles son muchos y se seleccionan al azar K niveles, pero las inferencias se desean hacer respecto al total de niveles, el análisis de varianza se denomina de **efectos aleatorios**. La idea básica es que el investigador no tiene interés en niveles particulares del factor. Cuando se utilizan dos factores, cada uno con varios niveles, uno de efectos fijos y otro de efectos aleatorios, el análisis de varianza es **mixto**.

c) Tipo de aleatorización: Aleatorización es el procedimiento por el cual las unidades experimentales (en general, los sujetos) se asignan al azar a los niveles del factor o tratamientos, de modo que todas ellas tengan la misma probabilidad de recibir un tratamiento o nivel determinado.

2.11 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

Uno de los factores más importantes en el proceso de limpieza y su validación, es el establecimiento de los límites de aceptación. El punto de inicio para cualquier determinación de límites de residuos, es la cantidad de residuo proveniente del proceso de limpieza que podría estar presente en el producto subsecuentemente fabricado sin que implique un riesgo no razonable. Las compañías preferirían que no hubiera residuos presentes; sin embargo, es imposible medir un "no" residuo.

Hay dos términos que se utilizan en forma alternativa pero tienen diferente significado: "criterios" y "límites" de aceptación. Los "criterios de aceptación" se refieren generalmente a una lista total de requisitos que se deben cumplir para que el estudio sea aprobado; por ejemplo: cantidad máxima del principio activo en el equipo, cantidad máxima de residuos de agua o de solventes presente en el equipo, informes escritos que contienen una explicación de todos los resultados fuera de especificación, una copia de todos los PNO's, etc. El



termino "Límites" se refiere generalmente para las cantidades máximas reales de residuos de principios activos, agentes de limpieza, sanitizantes, etc.

El razonamiento de la compañía para el establecimiento de los límites de residuos debe ser lógico (basados en una comprensión del proceso) y práctico, realizable y verificable, basado en el conocimiento por parte del fabricante, de los materiales involucrados. Es importante definir la sensibilidad de los métodos analíticos para establecer límites razonables. ^(35,14)

Para establecer el límite de aceptación se deben tomar en cuenta las siguientes consideraciones:

Una lista de todos los productos que son fabricados

Por cada producto:

- Tamaño del lote
- Número de unidades de dosis por lote
- Potencia mas baja
- Dosis máxima diaria
- Área superficial de contacto del producto en cada pieza del equipo en cada fabricación
- LD₅₀
- Los productos que entran en contacto con cada uno de los equipos de fabricación, entre otros.

Existen principalmente dos formas para determinar el límite de aceptación:

Individual. Es cuando se calcula un criterio de aceptación por producto, tomando en cuenta el área total de los equipos con los que tuvo contacto en todo el proceso de fabricación.



Por equipo. Es cuando se elige un solo equipo y se calcula el criterio de aceptación tomando en cuenta el producto que represente el "peor caso"

Algunos criterios de aceptación que han sido mencionados por los representantes de la industria, en la literatura o en presentaciones, incluyen la detección analítica de niveles tales como 10 ppm; niveles de actividad biológica tales como 1/1000 de la dosis terapéutica normal, y niveles organolépticos tales como residuos no visibles. ⁽¹⁴⁾

2.11.1. Criterio basado en niveles de actividad biológica tales como 1/1000 de la dosis terapéutica normal

No más de 0.1 % (1/1000) de la dosis mínima del producto 1 estará presente en una dosis diaria máxima del producto siguiente 2. Esto indica que el producto 1 está considerado inactivo en el 10% de la dosis mínima. 1/100 se aplica como factor de seguridad.

Hay 3 factores de 10 en la fracción 0,001 en los que se basa este criterio. El primero es que los principios activos están considerados a menudo ser inactivos en 0,1 de sus dosis normalmente prescritas; el segundo es un factor de seguridad; y el tercero es que el programa de la validación de la limpieza debe ser robusto, es decir que sea lo suficientemente flexible para poder considerarlo como aceptable en muchos productos, en muchas partes, por un tiempo determinado, siempre y cuando de haga un ajuste de estándares.

Se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Limite } 0.1\% (\mu\text{g} / \text{hisopo}) = \frac{0.1\% \text{ del producto}}{M} \times \frac{B}{A} \times R \times S \times 1000$$



Donde:

0.1% = 0.1% de la dosis terapéutica del producto # 1 (mg / unidad)

M = Dosis diaria máxima del producto # 2 (unidades / día)

B = Tamaño del lote del producto # 2 (Unidades/ día)

A = Área superficial compartida del equipo # 1 y # 2 en cm^2

R = Factor de recuperación del producto # 1 (determinado por estudios de recobro)

S = Área muestreada con hisopo (25 cm^2 / hisopo)

1000 = Factor de conversión de miligramos a microgramos.

El factor 0.1% es la dosis mínima del producto fabricado que dará una respuesta farmacológica aceptable. Este factor aparece en el numerador porque un valor de dosis mínima más alto, indica que el límite de aceptación de residuos será mayor, siempre y cuando esté relacionado con fracción de dosis. En la ecuación, este factor es el único que se relaciona directamente con el producto que se está limpiando.

El factor M es el número máximo de unidades de dosificación por día del producto 2. Aparece en el denominador y si el producto receptor se dosifica con más frecuencia, el límite para el producto 1 (el que está a punto de ser limpiado) debe ser más reducido.

El factor B aparece en el numerador. Los residuos del producto limpiado que aparecen en el producto 2 serán diluidos por el mismo producto. Un lote grande del producto 2 diluirá más los residuos, y por lo tanto serán aceptables límites mayores para el producto 1.



El factor A es el área de producto que entra en contacto con el área superficial del equipo común entre los dos productos y las unidades se expresan en centímetros cuadrados.

El factor R indica la cantidad real del producto a limpiar que nuestro método de muestreo es capaz de retirar de la superficie del equipo. Este se obtiene mediante estudios de recobro en pruebas de laboratorio.

El factor S, es el área estándar a muestrear con hisopo, acordada por el departamento de Aseguramiento de Calidad de la compañía Apotex.

2.11.2 Criterio basado en datos de toxicidad tal como DL₅₀

Este criterio se basa en la toxicidad de las sustancias utilizando los valores de Dosis Letal media ó Dosis Letal 50 (DL₅₀), este valor se refiere a la dosis mínima de una sustancia que provoca la muerte del 50% de la población de animales expuestos a un estudio de toxicidad controlado. Este criterio puede ser utilizado en productos cuya dosis terapéutica se desconoce.

Se emplea la siguiente fórmula:

$$\text{Limite DL50 } (\mu\text{g / hisopo}) = \frac{\text{LD50}}{2000} \times \frac{\text{C}}{\text{F}} \times \frac{\text{B}}{\text{M}} \times \text{R} \times \frac{\text{S}}{\text{A}} \times 1000$$

Donde:

LD₅₀ = Valor de toxicidad del producto #1 (mg/kg)

M = Dosis diaria máxima del producto # 2 (unidades)

2000 = Es una constante empírica

C= 70 kg de peso corporal de un adulto



F= Factor de seguridad

B = Tamaño del lote del producto # 2 (unidades)

A = Área superficial compartida del equipo # 1 y # 2 en cm^2

R = Factor de recuperación del producto # 1 (determinado por estudios de recobro)

S = Área muestreada con hisopo (25 cm^2 / hisopo)

1000 = Factor de conversión de miligramos a microgramos.

El factor DL_{50} se refiere a la toxicidad individual de una sustancia y dependerá de la vía de administración del fármaco. Normalmente se expresa como miligramos o Kilogramos de peso del animal.

El factor C se refiere al peso promedio de un adulto en Kg (70Kg)

El factor 2000 es una constante empírica determinada mediante estudios de toxicidad realizados por Layton et. al. ⁽¹⁹⁾

El factor F es un factor de seguridad que esta asociado a la via de dosificación del producto a contaminar. El valor de los factores varía dependiendo de la bibliografía consultada, pero en general los valores son los siguientes: ^(3,17,35)

Vía de dosificación del producto	F
Tópica	100
Oral	1000
Inyectable u oftálmica	10000
Productos nuevos	100000

El alcance de esta tesis es para productos sólidos orales, por lo que se utiliza el factor de seguridad de 1000.



2.11.3 Criterio basados en la determinación analítica de niveles tales como 10 ppm

No más de 10 ppm de cualquier producto 1 aparecerá en otro producto 2. La idea de usar un nivel máximo permitido en unidades de partes por millón, tiene sus raíces en las regulaciones que se aplican a productos alimenticios. En esas regulaciones, ciertos niveles de sustancias peligrosas secundarias se consideran aceptables en los tejidos animales y los productos de aves de corral que entran en la cadena alimenticia humana.

Se emplea la siguiente formula:

$$\text{Límite de 10 ppm } (\mu\text{g / hisopo}) = 10 \text{ ppm} \times \frac{B}{A} \times S \times R \times 1000$$

Donde:

10 ppm = 10 mg de producto #1 / kg de producto #2 (mg/kg)

B = Tamaño del lote del producto # 2 (Kg)

A = Área superficial compartida del equipo # 1 y # 2 en cm²

R = Factor de recuperación del producto # 1 (determinado por estudios de recobro)

S = Área muestreada con hisopo (25 cm² / hisopo)

1000 = Factor de conversión de miligramos a microgramos.

El factor 10 ppm es siempre 10mg de la actividad del producto limpiado (producto 1) por kilogramo de la mezcla final del producto receptor (producto 2)



2.11.4 Criterio basado en niveles organolépticos tales como residuos no visibles

Este criterio es significativo. Si una superficie está visualmente sucia, entonces el procedimiento de limpieza no es aceptable o bien, un procedimiento aceptable se encuentra fuera de control y no se podrá seguir con la validación. Este criterio se emplea con fines tanto de validación como de monitoreo.

Se considera que la línea divisoria entre visualmente limpio y visualmente sucio se halla en el rango de 100 µg en un área de 25 cm². No importa que producto siga en la fabricación, ni su dosis, sólo se estima el valor antes mencionado.

En la mayoría de los casos el examen visual proporciona información adicional en cuanto al estado de limpieza del equipo, pero generalmente tiene que estar apoyado con algún método analítico ya que una superficie visualmente limpia podría no indicar claramente si el residuo se encuentra en un nivel aceptable.

Elección del Límite Analítico de Aceptación de residuos.

Uno o más de los criterios anteriores se deben considerar para establecer los niveles de limpieza que proveen un nivel aceptable de riesgo considerando el método analítico a utilizar y el tipo de muestreo. Se deberá calcular el límite utilizando los cuatro criterios y se seleccionara el más conservador, es decir, el valor más bajo.



2.11.5 Consideraciones microbiológicas

Se deben considerar los aspectos microbiológicos en la validación de limpieza, esto consiste en gran parte en medidas preventivas y no correctivas. Debe existir evidencia documental de que la limpieza y el almacenaje rutinarios del equipo, no permita la proliferación microbiana y se deberán tomar en cuenta factores como: el tiempo de almacenaje del equipo, el equipo tiene que estar seco antes de almacenarse y por ningún motivo se debe permitir la presencia de agua estancada en el equipo antes de empezar a fabricar el producto. Es necesario asegurarse de que los procedimientos de sanitización proporcionen un control adecuado de la biocarga.

No existen lineamientos claros establecidos por la FDA para la contaminación microbiológica de las áreas y equipo de proceso, por lo que no existe un límite establecido, pero no se puede esperar que las áreas y equipo estén libres de todos los microorganismos, y mucho menos si hablamos de procesos no estériles, especialmente si cualquier enjuague final incluye agua no estéril, a menos que se recurra a sanitización final o a un paso de esterilización.

Como mínimo, se deben emplear los criterios utilizados para las superficies críticas del cuarto de limpieza y es obvio que la presencia de organismos entéricos como E. coli o Enterococcus normalmente es inaceptable.

También se puede realizar la evaluación microbiana en el agua purificada utilizada en el enjuague del equipo o se pueden tomar muestras del equipo utilizando hisopos de alginato o placas con agar. En todos los casos se evaluará la presencia de Staphylococcus, Pseudomonas, Enterobacterias, Salmonella, Hongos y levaduras y la cuenta total de Mesofilos aerobios. ^(21, 29, 13)



2.12 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN

El protocolo de validación es necesario para definir los apartados y actividades específicas que constituirán el estudio de validación de limpieza. Es recomendable que la compañía elabore un plan maestro que indique la estrategia completa de la validación de limpieza para cualquier gama de productos/ tipo de equipos/ sitios enteros.

El protocolo de validación es un documento importante debido a que es la clave para llevar a cabo el proceso de validación. Se debe elaborar el protocolo antes de iniciar el estudio y deberá incluirse la referencia de la documentación requerida que contenga la siguiente información:

1. Identificación y presentación

- Área que elabora el documento
- Consecutivo del documento, año de emisión
- Sección de presentación de firmas y autorización

2. Objetivo del estudio

Que proceso de limpieza debe ser validado (indicando el producto que deberá ser removido y los equipos involucrados en el proceso) Si este estudio va a ser empleado para demostrar la aceptación del procedimiento de limpieza para un grupo de productos se deberá incluir en este punto la justificación.

El procedimiento de limpieza deberá ser validado y deberán ser identificados, por ejemplo: agentes de limpieza, número de ciclos de lavado, parámetros del equipo, etc.



3. Alcance del estudio

La compañía debe evaluar el proceso y determinar para qué residuos será aprobado (incluyendo agentes de limpieza) y cuales no se incluyen en esta justificación. Se deberá determinar el número de lotes a evaluar antes de elaborar el reporte final, así como las recomendaciones pertinentes.

4. Personal responsable durante el estudio

5. Lista de parámetros de proceso que deberán verificarse

Esto es necesario particularmente cuando se utilizan técnicas de limpieza automáticas o semiautomáticas.

6. Muestreo y procedimiento de inspección que se utilizará

Se deberá indicar el tipo de método que será utilizado, el tratamiento y el número de muestras que deberán tomarse, también se deberá incluir cualquier requisito particular. Se debe incluir un diagrama indicando los puntos de muestreo del equipo.

7. Método analítico que será utilizado

Se deberá hacer referencia a la validación del método analítico

8. Criterio de aceptación

- Físico
- Químico
- Microbiológico

Se deberá incluir las hojas de cálculo que hacen referencia a estos límites (Anexos)



9. Control de cambios

Es un sistema que permite administrar de manera organizada los cambios propuestos por la empresa, identificando y documentando todas las actividades necesarias que se requieran previas al establecimiento y asignación de responsables y lineamientos que aplicarán a la propuesta de cambio que se origina garantizando con éste que la calidad de los procesos y productos no se verán afectados.

Todo cambio a cualquier equipo de producción, método analítico, agente de limpieza o instalaciones debe ser planeado, evaluado, autorizado y documentado antes de su establecimiento.

10. Criterios de recalificación

11. Bibliografía

12. Anexos

13. Glosario

14. Aprobación del protocolo antes del estudio

Cualquier alteración a un protocolo aprobado debe ser manejada siguiendo los procedimientos de control de cambios de la compañía, proveyendo toda la evidencia y documentación disponible.



Reporte de Validación

Es necesario un reporte de validación para presentar los resultados, conclusiones y asegurar la aprobación del estudio. El reporte debe incluir, pero no limitarse a:

1. Resumen o listado de los procedimientos de limpieza, muestreo y métodos
2. Resultados del análisis físico y analítico referente a las muestras con sus observaciones pertinentes
3. Conclusiones respecto a la aceptación de los resultados y el estado validado del procedimiento(s).
4. Recomendaciones basadas en los resultados o información relevante obtenida durante el estudio.
5. Aprobación de conclusiones.
6. Desviaciones y correcciones del protocolo.
7. En caso de que la fabricación de algún producto sea esporádica, es recomendable generar informes provisionales de cada lote hasta completar el número de lotes requeridos para la validación.



3. MATERIALES Y METODOS

3.1 INSTRUMENTOS Y EQUIPOS

Analizador de Carbono Orgánico Total

Modelo: TOC-V CPH

Marca: SHIMADZU

Código: TOC-01

No. Serie: TOCV-10401-000561

Balanza Analítica

Modelo: XS204

Marca: METTLER TOLEDO

Código: BAS-44

No. Serie: 1125081394

Estufa

Marca: Sartomett

Código: EST-001

Milli-Q

Modelo: Academic

Marca: Millipore

No. Serie: BIKN36202A

Potenciómetro

Marca: Conductronic

Código: CON-01

No. Serie: 276

3.2 REACTIVOS

Disolventes

Agua con bajo contenido de carbono

Ácido Nítrico 6N

Distribuidor: J. T. Baker

Lote: Y52C20



Reactivos

- 1,4-Benzoquinona, Estándar de referencia USP
Lote: G
- Sacarosa, Estándar de referencia USP
Lote: H0B002
- Biftalato de Potasio, Grado reactivo
Lote: 51K3653
- Estavudina, Materia Prima
Lote: B24873
- SANI-Q, Sanitizante
Línea: BUKEYE

3.3 MATERIALES

- Matraces volumétricos de 10 mL
- Matraces volumétricos de 50 mL
- Matraces volumétricos de 100 mL
- Matraces volumétricos de 250 mL
- Matraces volumétricos de 1000 mL
- Pipeta volumétrica de 1,2,3,4,5 y 20 mL
- Probeta de 500 mL
- Vasos de precipitado de 100 mL
- Bureta de 10 mL
- Espátula
- papel parafilm
- papel aluminio
- placas de acero inoxidable 314
- hisopos
Modelo: Large Alpha Swab TX714A
Marca: TEXWIPE
Lote: 0911271
- Viales para TOC de 20 mL

Metodología para la elaboración del Plan Maestro para la validación de procesos de limpieza

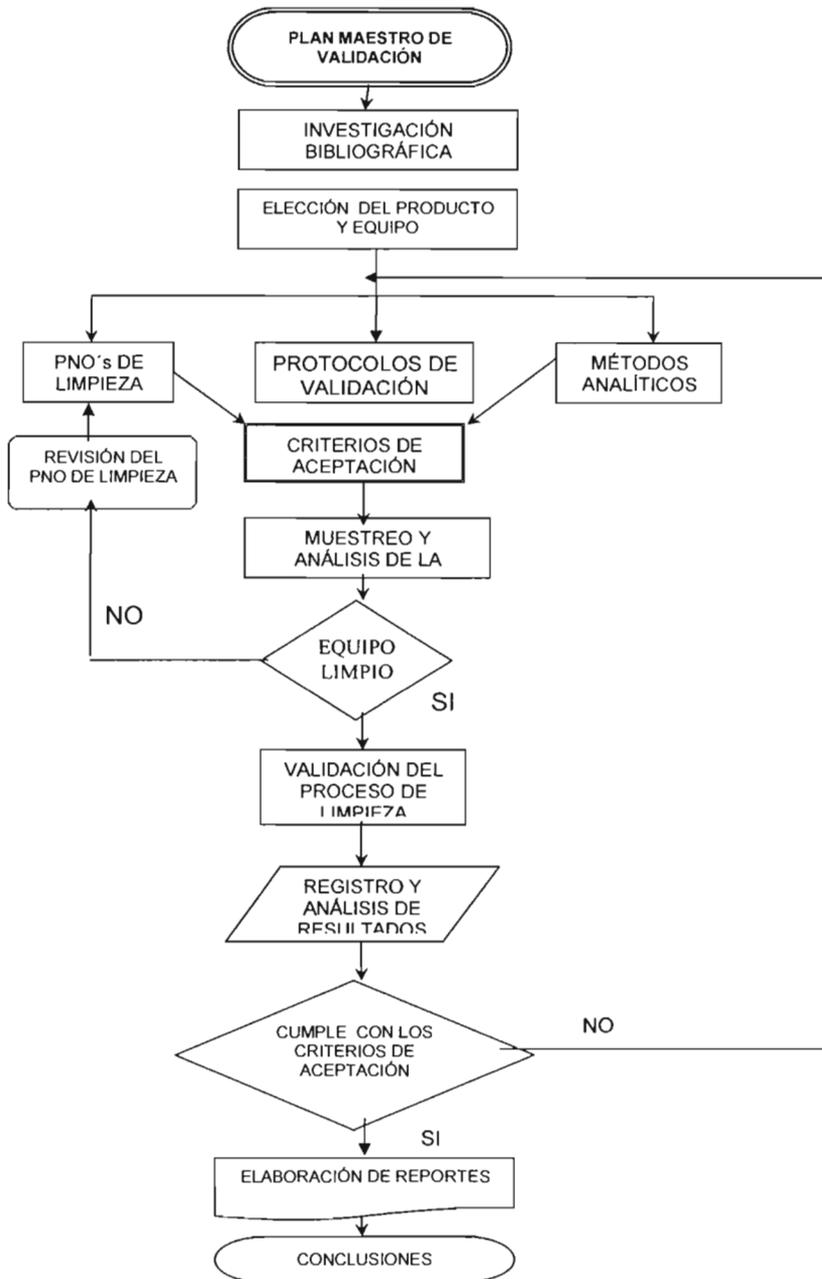


Fig. 3 Diagrama general para la elaboración del plan maestro para la validación de procesos de limpieza



4. DESARROLLO EXPERIMENTAL

4.1 SELECCIÓN DEL PEOR CASO Y EQUIPOS A MONITOREAR

Investigación Bibliográfica

Consta de la recopilación de datos relacionados con los equipos, productos, áreas, PNO's, etc. los cuales se requieren para establecer la estrategia de validación. Datos como solubilidad, DL_{50} , concentración, etc.

Equipos A Monitorear Y Elección Del Peor Caso

Se seleccionan equipos compartidos, principalmente aquellos en los que tiene contacto la mayoría de los productos fabricados en la planta de Apotex y que, por experiencia de los operadores, son más difíciles de limpiar.

A continuación se muestran en la Tabla 9 los equipos cuyo proceso de limpieza será validado y el peor caso que se fabrica en cada uno de ellos.

Equipo	Código	Área	Localización	Código	Producto "Peor caso"
Báscula	BAS-27	Almacén	Almacén de MP	ALM-03	APOSTAVINA APOLIDE
Tamizador	TAM-05	Granulados	Mezclado seco lotes chicos	SOL-08	APOSTAVINA APOLIDE
Compactador	COM-01	Granulados	Compactado	SOL-03	APOLIDE
Mezclador	MEZ-01	Granulados	Mezclado seco lotes chicos	SOL-08	APOSTAVINA APOLIDE
Encapsuladora Zanazi	CAP- 001	Granulados	Encapsulado	SOL-06	APOSTAVINA
Tableteadora	TAB-04	Granulados	Tableteado	SOL-13	APOLIDE
Desempolvador	01	Granulados	Tableteado	SOL-13	APOLIDE
Contadora Versacount	VER-01	Sólidos	Envasado	SOL-25	APOSTAVINA
Blisteadora	BLI-01	Sólidos	Envasado	SOL-19	APOLIDE

TABLA 9. - Lista de equipos que intervienen en la fabricación de los productos clasificados como peores casos.



Selección Del Peor Caso

Se elabora una lista de productos que se fabrican en los equipos seleccionados (ver Anexo 1), posteriormente se agrupan dependiendo de su descripción terapéutica (ver Anexo 2) y se eligen los grupos de productos que podrían ser el peor caso basándose en datos de toxicidad, concentración y solubilidad, con los cuales se elabora la matriz de selección del "peor caso". La matriz de selección de productos para los equipos seleccionados se encuentra en el Anexo 3, en donde podemos ver que los dos principios activos considerados como el "peor caso" son: Estavudina y Nimesulida.

Descripción De Los Equipos Y Selección De Los Puntos De Muestreo

Los puntos de muestreo se eligen tomando en cuenta principalmente la experiencia de los operadores y los sitios donde exista la posibilidad de adherencia del producto en determinadas superficies. En el Anexo 7 se muestran los diagramas de los equipos a validar y se indican los puntos de muestreo seleccionados.

Características generales de los equipos a monitorear:

TAMIZADORA

Clave: TAM-02

Marca: COLTON

Modelo: 544A

No. De Serie: 4578

Capacidad: 20 Kg.

Material: Acero Inoxidable

MEZCLADOR EN "V"

Clave: MEZ-01

Marca: Montaña

Capacidad: 100 Kg.

Material: Acero Inoxidable



COMPACTADOR

Clave: COM-01
Marca: ROLLER COMPACTOR
Modelo: TF-208
No. De Serie: 141-01168
Capacidad: 10 Kg.
Material: Acero Inoxidable

DESEMPOLVADOR

Clave: DES-02
Marca: Stockes
Capacidad: 1Kg
Material: Acero Inoxidable

TABLETEADORA

Clave: TAB-04
Marca: Killian
Modelo: RTS
Material: Acero Inoxidable

ENCAPSULADORA

Clave: CAP-01
Marca: Zanazi
Modelo: 21214
No. De Serie: LZ-64
Capacidad: 67 Cap/min
Material: Acero Inoxidable

CONTADORA

Clave: VER-01
Marca: Versacount
Modelo: 721 R
No. De Serie: 1300
Capacidad: 35 tab/ min.
Material: Acero Inoxidable

BLISTEADORA

Clave: BLI-01
Marca: Famar
Modelo: RM250
No. De Serie: 1598
Material: Acero Inoxidable



4.2 PROCEDIMIENTOS DE LIMPIEZA

Cada uno de los equipos deberá contar con un procedimiento específico de limpieza validado, el cual se seguirá rigurosamente por los operadores encargados de la limpieza de cada equipo.

El procedimiento en general incluye las siguientes etapas:

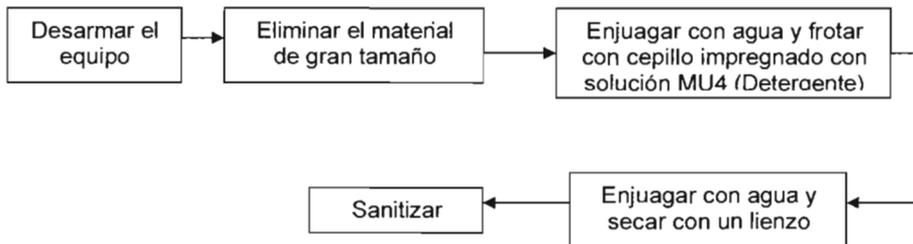


Fig. 4 Diagrama de etapas generales del procedimiento de limpieza

Los Procedimientos Normalizados de Operación (PNO's) para la limpieza de cada uno de los equipos se encuentran en el Anexo 8.

4.3 MÉTODOS DE MUESTREO DE RESIDUOS

Durante la validación se van a analizar trazas de principios activos, sanitizantes y contaminación microbiana.

Se utilizan dos tipos de muestreo. Para la detección de trazas de principios activos y el muestreo para análisis microbiológico se hará por raspado en superficies con hisopo (Ver anexo 6). Para la detección de residuos de Sanitizante se utiliza el método de muestreo por enjuague final.



4.4 MÉTODO DE ANÁLISIS DE RESIDUOS

Para el análisis de residuos se emplean dos técnicas analíticas, la detección de trazas se hará por el método de Carbono Orgánico Total (TOC) suponiendo que el peor caso es el principio activo, ya que se trata de una técnica no específica.

El tratamiento de la muestra para la determinación de trazas de principio activo consiste en sumergir el hisopo en el vial para análisis TOC que contiene 20 mL del disolvente que se utilizó para la validación del método analítico y posteriormente se agita mecánicamente por 10 minutos, para favorecer la extracción de los residuos. La muestra se inyecta a las mismas condiciones con las que se validó el método y el resultado se obtiene de la comparación de las áreas de los picos obtenidos de las muestras con las áreas de los picos obtenidos en la curva estándar correspondiente. Este resultado se deberá multiplicar por el factor de recobro para obtener el valor real de residuos presentes en la muestra.

MÉTODO DE DETECCIÓN DE TRAZAS DE SANITIZANTE:

Este análisis se realiza solo para corroborar que efectivamente nuestro procedimiento de limpieza es capaz de retirar restos de sanitizante, ya que dentro del análisis por TOC se incluyen trazas de sanitizante de una forma no específica.

La determinación de trazas de sanitizante en el agua de enjuague se hará por medio de diferencia de conductividad empleando una curva a diferentes concentraciones que incluya el criterio de aceptación.



La muestra se tomará del último enjuague realizado después de la sanitización, se recolectara aproximadamente un litro de esta agua y se le determinara la conductividad para extrapolarla en la curva estándar y obtener la concentración.

MÉTODO DE ANÁLISIS MICROBIOLÓGICO

Para el análisis microbiológico se utiliza la técnica de raspado con hisopo. Esta prueba se realiza con hisopos húmedos sumergidos en tubos que contienen solución salina estéril. Los tubos deberán estar previamente identificados.

En el momento del muestreo se saca el hisopo del tubo y se frota sobre los puntos seleccionados de cada equipo (áreas de $5 \times 5 \text{ cm}^2$) posteriormente se regresa el hisopo al tubo, se tapa y se lleva para realizar análisis en el área de microbiología.

En condiciones asépticas se agregan 10 ml de Buffer en los tubos que contengan los hisopos. Se toma 1 mL de la dispersión y se siembra en cajas que contengan Agar soya y tripticaseína (AST), agar Verde Brillante, agar ENDO y agar dextrosa Saboraud. Las placas se incuban a $37 \pm 2 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 48 – 72 hrs., con excepción de las placas que contienen Agar dextrosa Saboraud el cual se incuba a $22.5 \pm 2.5 \text{ }^\circ\text{C}$ durante 5 a 7 días.

Después de transcurrido el tiempo de incubación, observar si hay desarrollo de UFC, descartar la presencia de *S. aureus*, *Pseudomona sp*, *Salmonella sp*, *E. coli* y contar las colonias de mesofilos aerobios, levaduras y hongos.

4.4.1 Validación del método analítico (TOC)

Antes de iniciar la validación del proceso de limpieza, se deberá contar con un método analítico validado. Al ser el TOC un método inespecífico, no entra en



ninguna de las categorías de validación de métodos analíticos y hasta el momento no se cuenta con ninguna normatividad que establezca los parámetros que deberán considerarse.

Uno de los factores importantes que deberá tomarse en cuenta, es la cantidad de carbono del medio que pueda interferir con las muestras, es por eso que se deberá tener un cuidado especial en la limpieza del material.

Limpieza y preparación del material

Lavar el material de vidrio a utilizar con solución jabonosa y enjuagar perfectamente, dejar que se escurra un poco el material. Posteriormente llenar o sumergir el material con ácido nítrico 6N y dejar reposar por 20 minutos con el fin de eliminar la mayor cantidad de carbono que pudiera contener el material. Transcurrido el tiempo, enjuagar el material una vez con agua deionizada y tres con agua Milli - Q u otra equivalente a menos de 100 ppb de carbono.

Dejar secar el material tapado o volteado boca abajo para evitar cualquier contaminación de carbono (puede utilizarse papel aluminio). El material que se utilizara deberá ser exclusivo para análisis TOC. Las placas de acero inoxidable seguirán el mismo tratamiento

Preparación de Reactivos

Solución 6N de ácido Nítrico

Transferir 100 ml de agua Milli – Q a un matraz volumétrico de 1000 mL, posteriormente adicionar 254 mL de ácido Nítrico concentrado, mezclar y llevar al aforo con agua Milli – Q.



Preparación de la solución stock de sacarosa

El estándar de sacarosa deberá secarse durante tres horas a 105 ° C antes de su uso. Pesar aproximadamente y con exactitud 15 mg de estándar de sacarosa y transferirlo a un matraz de 250 mL, llevar al aforar con agua Milli - Q, agitar.

Preparación de la solución estándar de sacarosa

Preparar una solución de sacarosa que tenga una concentración de 1.19 mg de sacarosa por litro (0.5 mg de carbono/litro ó 500 ppb de carbono). Transferir 2 ml de la solución stock de Sacarosa, a un matraz volumétrico de 100 ml, llevar al aforo con agua Milli – Q y agitar.

Preparación de la solución stock de 1,4 – Benzoquinona

Pesar con exactitud 18.7 mg de estándar de 1,4 – Benzoquinona y transferirlo a un matraz volumétrico de 250 mL, llevar al aforo con agua Milli – Q, agitar.

Preparación de la solución estándar de 1,4 – Benzoquinona

Preparar una solución de 1-4 Benzoquinona que tenga una concentración de 0.75 mg por litro (0.5 mg de carbón/litro ó 500 ppb de carbono). Transferir 2 ml de la solución stock de 1,4 – Benzoquinona a un matraz volumétrico de 200 ml, llevar al aforo con agua Milli – Q y agitar.

Preparación de la solución stock de Biftalato de potasio

Pesar con exactitud 0.266 g de Biftalato de potasio previamente seco a 105 °C por dos horas y transferirlo a un matraz volumétrico de 250 mL, llevar al aforo con agua Milli – Q, agitar.



A continuación se describen los parámetros a considerar para la validación del método analítico por el método de carbono Orgánico Total (TOC), así como el desarrollo experimental y los criterios de aceptación.

Preparación de la curva estándar de Nimesulida en placas

Se prepara una curva estándar de Nimesulida en placas, para poder calcular el porcentaje de recobros y exactitud del método utilizando la técnica de raspado de superficies con hisopo.

Pesar con exactitud 0.396 g de Nimesulida y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL libre de carbón, disolver y aforar a la marca con hidróxido de sodio 0.01N Transferir con una bureta de 10 mL, por separado 0.5, 1 y 1.5 mL a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con hidróxido de sodio 0.01N. Las concentraciones finales de la curva estándar serán 0, 5, 10 y 15 ppm.

Inocular con una pipeta volumétrica libre de carbono, 1 mL de solución de cada uno de los matraces, en las placas de acero inoxidable de 5 x 5 cm libres. Utilizar una placa que será nuestro blanco inoculada con 1 ml de hidróxido de sodio 0.01N. Evaporar el líquido en estufa a una temperatura de 50-60 °C durante 20 minutos aproximadamente, retirar las placas de la estufa, dejar enfriar a temperatura ambiente y realizar el raspado con hisopo como se indica en el Anexo 6. Programar dos de cada 3 inyecciones de cada uno de los viales con un CV \leq 10 %.

Preparación de la curva estándar de Estavudina en placas

Se prepara una curva estándar de Estavudina en placas, para poder calcular el porcentaje de recobros y Exactitud del método utilizando la técnica de raspado de superficies con hisopo.



Pesar con exactitud 0.374 g de Estavudina y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL libre de carbón, disolver y aforar a la marca con agua Milli - Q. Transferir con una bureta de 10 mL, por separado 0.5, 1 y 1.5 mL a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con agua Milli - Q. Las concentraciones finales de la curva estándar serán 0, 5, 10 y 15 ppm

Inocular con una pipeta volumétrica libre de carbono, 1 mL de solución de cada uno de los matraces, en las placas de acero inoxidable de 5 x 5 cm libres. Utilizar una placa que será nuestro blanco inoculada con 1 ml de agua Milli - Q. Evaporar el líquido en estufa a una temperatura de 50-60 °C durante 20 minutos aproximadamente, retirar las placas de la estufa, dejar enfriar a temperatura ambiente y realizar el raspado con hisopo como se indica en el Anexo 6. Programar dos de cada 3 inyecciones de cada uno de los viales con un CV \leq 10 %.

En la Planta de Apotex México se determinó realizar los siguientes parámetros para la validación del método analítico por Carbono Orgánico Total.

a) Adecuabilidad del sistema:

Definición: Verificación de que el sistema (instrumento, analista, equipo, sustancia de referencia, entre otros) opera con base a criterios preestablecidos, que permiten asegurar la confiabilidad de los resultados de un método analítico.

Desarrollo Experimental: Realizar las lecturas de un blanco de agua Milli - Q, la solución estándar de Sacarosa y la solución estándar de 1,4 – Benzoquinona. Calcular el porcentaje de eficiencia de acuerdo a la siguiente fórmula:

$$\text{Por ciento de eficiencia de oxidación} = 100 [(r_{ss}-r_w)/(r_s-r_w)]$$



r_s = Solución estándar de Sacarosa

r_{ss} = Solución estándar de 1-4 Benzoquinona

r_w = Blanco de agua

Criterios de aceptación:

El sistema es adecuado si la respuesta de eficiencia de oxidación es mayor a 85% y menor de 115% de la respuesta teórica.

b) Linealidad del sistema:

- Biftalato de Potasio

Definición: Habilidad para asegurar que los resultados obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración del analito, dentro de un intervalo determinado.

Procedimiento Experimental: Preparar una curva estándar de Biftalato de potasio en tres niveles de concentración considerando las 10 ppm como el 100 % del nivel especificado al cálculo de los límites de aceptación científicamente justificables.

Transferir por separado alícuotas de 1, 2 y 3 mL de solución stock de Biftalato de potasio, a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con agua Milli - Q (las concentraciones finales serán 5, 10 y 15 ppm de carbón). Vaciar a cada uno de los viales (no olvidar enjuagar tres veces con la misma solución). Leer la curva en el equipo inyectando cada punto por triplicado.



- Linealidad del sistema utilizando principio activo a evaluar

Preparar una curva estándar del principio activo en tres niveles de concentración y considerando las 10 ppm como el 100 % del nivel especificado al cálculo de los límites de aceptación científicamente justificables.

Para Nimesulida:

Pesar con exactitud 0.247 g de Nimesulida y transferirlos a un matraz volumétrico de 250 mL libre de carbón, disolver y aforar a la marca con hidróxido de sodio 0.01N (solución stock). Transferir por separado alícuotas de 1, 2 y 3 mL a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con hidróxido de sodio 0.01N (las concentraciones finales serán 5, 10 y 15 ppm de carbón). Vaciar a cada uno de los viales. Leer la curva en el equipo inyectando cada punto por duplicado.

Para Estavudina:

Pesar con exactitud 0.233 g de Estavudina y transferirlos a un matraz volumétrico de 250 mL libre de carbón, disolver y aforar a la marca con agua Milli – Q (solución stock). Transferir por separado alícuotas de 1, 2 y 3 mL a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con agua Milli – Q (las concentraciones finales serán 5, 10 y 15 ppm de carbón). Vaciar a cada uno de los viales. Leer la curva en el equipo inyectando cada punto por duplicado.

Criterios de Aceptación:

$$r^2 \geq 0.98$$

$$CV \leq 10 \% \text{ (entre inyecciones)}$$



c) Repetibilidad del sistema:

Definición: Precisión de un método analítico, expresada como la concordancia obtenida entre determinaciones independientes realizadas por un solo analista, usando los mismos instrumentos y métodos.

Procedimiento Experimental: Preparar 6 veces la solución empleada como el 100 % (10 ppb de Carbono) en la prueba de linealidad del sistema para cada uno de los principios activos. Vaciar en cada uno de los viales y leer en el equipo.

Criterios de aceptación:

$$CV \leq 10 \% \text{ (entre inyecciones)}$$

$$CV \leq 5 \% \text{ (entre resultados)}$$

d) Factor de recobro para el ensayo:

Definición: Cantidad del analito determinada en la muestra adicionada, empleando el método analítico.

Procedimiento experimental: Se preparara una solución cuya concentración sea de 10 ppm, que se inoculara en placas de acero inoxidable y posteriormente se recuperara utilizando la técnica de raspado con hisopo.

Para Nimesulida:

Pesar con exactitud 0.396 g de Nimesulida y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL libre de carbón, disolver y aforar con hidróxido de sodio 0.01N. Transferir por separado una alícuota de 1 mL a un matraz volumétrico de 10 mL y aforar con hidróxido de sodio 0.01N, (la concentración final será 10 ppm de carbono).



Para Estavudina:

Pesar con exactitud 0.374 g de Estavudina y transferirlos a un matraz volumétrico de 100 mL libre de carbón, disolver y aforar con agua Milli - Q. Transferir por separado una alícuota de 1 mL a un matraz volumétrico de 10 mL y aforar con agua Milli – Q, (la concentración final será 10 ppm de carbono).

Para ambos casos inocular con una pipeta volumétrica 1 mL de solución de cada uno de los matraces, en placas de acero inoxidable de 5 x 5 cm libres de carbono. Repetir seis veces y utilizar una placa que será nuestro blanco, inoculada con 1 mL del disolvente empleado. Evaporar el líquido en estufa a una temperatura de 50-60 ° C durante 20 minutos aproximadamente, retirar las placas de la estufa, dejar enfriar a temperatura ambiente y realizar el raspado con hisopo como se indica en el Anexo 6. Programar dos de cada 3 inyecciones de cada uno de los viales.

Criterio de aceptación:

CV \leq 10 % (entre inyecciones)

CV \leq 5 % (entre resultados)

Recobros entre 80 % - 120 %

e) Linealidad del método

Definición: Habilidad del método para asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado de eficiencias en recobro.



Procedimiento experimental:

Para Nimesulida:

Pesar con exactitud 0.1991g, 0.3977 g y 0.5942 g de Nimesulida y transferirlos de manera independiente en matraces volumétricos de 100 mL, disolver y aforar a la marca con hidróxido de sodio 0.01N. Transferir por separado una alícuota de 1 mL de cada uno de los matraces a un matraz de 10 mL respectivamente y aforar con hidróxido de sodio 0.01N (las concentraciones finales serán de 5, 10 y 15 ppm).

Para Estavudina:

Pesar con exactitud 0.1868 g, 0.3737 g y 0.5605 g de Estavudina y transferirlos de manera independiente en matraces volumétricos de 100 mL, disolver y aforar a la marca con agua Milli - Q. Transferir por separado una alícuota de 1 mL de cada uno de los matraces a un matraz de 10 mL respectivamente y aforar con agua Milli – Q (las concentraciones finales serán de 5, 10 y 15 ppm).

Para ambos casos inocular con una pipeta volumétrica 1 mL de solución de cada uno de los matraces de 10 mL antes mencionados, en las placas de acero inoxidable de 5 x 5 cm (hacer por triplicado). Utilizar una placa que será nuestro blanco inoculada con 1 mL del disolvente empleado (que corresponde al 0 %). Evaporar el líquido en estufa a una temperatura de 50-60 ° C durante 20 minutos aproximadamente, retirar las placas de la estufa, dejar enfriar a temperatura ambiente y realizar el raspado con hisopo como se indica en el Anexo 6. Leer la curva en el equipo inyectando cada punto por duplicado



Criterio de aceptación:

$$r^2 \geq 0.98$$

$$CV \leq 10 \% \text{ (entre inyecciones)}$$

f) Exactitud del método:

Definición: Relación entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia.

Procedimiento experimental: Repetir 6 veces el nivel empleada como el 100 % (10 ppb de Carbono) en la prueba de linealidad del método para cada principio activo. Inocular en placas, recuperar por técnica de raspado con hisopo y leer en equipo TOC.

Criterios de aceptación: El promedio aritmético del porcentaje de recobros, se incluye en el intervalo:

De 85% a 115%

$$CV \leq 10 \% \text{ (entre inyecciones)}$$

$$CV \leq 5 \% \text{ (entre resultados)}$$

g) Límite de detección:

Definición: Concentración mínima del analito en una muestra, que puede ser detectada, pero no necesariamente cuantificada, bajo las condiciones de operación establecidas.



Procedimiento experimental:

Para Nimesulida:

Pesar con exactitud 0.0247 g de Nimesulida y transferirlos a un matraz volumétrico de 250 mL, disolver y aforar a la marca con hidróxido de sodio 0.01N. Transferir por separado alícuotas de 1, 2, 3 y 4 mL a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con hidróxido de sodio 0.01N (las concentraciones finales serán 0.5, 1, 1.5 y 2 ppm de carbono, equivalente al 5%, 10%, 15% y 20%). Vaciar a cada uno de los viales y programar la curva de calibración sin incluir el blanco. Programar 5 blancos utilizando hidróxido de sodio 0.01N.

Para Estavudina:

Pesar con exactitud 0.0234 g de Estavudina y transferirlos a un matraz volumétrico de 250 mL, disolver y aforar a la marca con agua Milli – Q. Transferir por separado alícuotas de 1, 2, 3 y 4 mL a tres matraces volumétricos de 100 mL y aforar con agua Milli - Q (las concentraciones finales serán 0.5, 1, 1.5 y 2 ppm de carbono, equivalente al 5%, 10%, 15% y 20%). Vaciar a cada uno de los viales y programar la curva de calibración sin incluir el blanco. Programar 5 blancos utilizando agua Milli – Q.

Calcular el valor del Límite de Detección (LD) con la siguiente fórmula:

$$LD = (3.3 \sigma) / S$$

σ = Desviación estándar de los blancos

S = Pendiente de la recta



Criterios de aceptación:

$$r^2 \geq 0.98$$

$$CV \leq 10 \% \text{ (entre inyecciones)}$$

$$CV \leq 5 \% \text{ (entre resultados)}$$

El valor del Límite de Detección será solo informativo

h) Límite de cuantificación:

Definición: Concentración mínima del analito, que puede ser determinada con precisión y exactitud aceptables, bajo las condiciones de operación establecidas.

Procedimiento experimental: Se sigue la misma metodología empleada para determinar el límite de detección.

Calcular el valor del Límite de Cuantificación (LC) con la siguiente formula:

$$LC = (10 \sigma) / S$$

σ = Desviación estándar de los blancos

S = Pendiente de la recta

Criterios de aceptación:

$$r^2 \geq 0.98$$

$$CV \leq 10 \% \text{ (entre inyecciones)}$$

$$CV \leq 5 \% \text{ (entre resultados)}$$

El valor del Límite de Cuantificación será solo informativo



4.5 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN

4.5.1 Para Principio Activo

El primer criterio que debe tomarse en cuenta es que el equipo esté visualmente limpio para proseguir con el muestreo.

En el Anexo 9 se muestran las hojas de cálculo para cada uno de los criterios de aceptación científicamente justificados para trazas de principios activos. Se tendrá que calcular el límite por los tres criterios (10 ppm, DL50 y 0.1%) y se seleccionara el valor mas bajo el cual será él limite de aceptación para el principio activo.

En el caso de la validación de limpieza para Nimesulida el límite analítico de aceptación de residuo es de: **3.56** ppm de Carbono/ hisopo (Anexo 9)

En el caso de la validación de limpieza para Estavudina el límite analítico de aceptación de residuo es de: **3.73** ppm de Carbono/ hisopo (Anexo 9)

4.5.2 Para sanitizantes

Agua de enjuague final

El agua de enjuague final debe cumplir con ciertas especificaciones. La USP 28 nos menciona los siguientes ensayos y su especificación. ⁽²⁴⁾

Ensayo	Especificación
pH	5.0 – 7.0
Conductividad	1.3 mcs/cm ²



Para calcular el Limite Analítico de Aceptación de residuos para sanitizante se utilizará la siguiente formula:

$$LAAR= R / V$$

Donde:

R = 10 mg de producto 1 * Kg. de producto 2 (siguiente producto a fabricar)

V = Volumen de muestra (el volumen tomado será de 1 Litro)

4.5.3 Microbiológico

El análisis microbiológico debe dar como resultado ausencia de Hongos, Levaduras y microorganismos patógenos (S. aureus, Pseudomona sp y E. coli).



5. RESULTADOS

5.1 VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO

5.1.1 Validación del método analítico TOC para Nimesulida

PRUEBA	PREPARACIÓN DE MUESTRAS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
ADECUABILIDAD DEL SISTEMA	ANÁLISIS CON SACAROSA COMO SOLUCIÓN ESTANDAR Y 1-4 BENZOQUINONA COMO SOLUCION DE ADECUABILIDAD USP	Eficiencia entre 85-115%	100.03 % de Eficiencia
LINEALIDAD DE SISTEMA CON BIFTALATO DE POTASIO	RANGO DE 50% - 150 % DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LIMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm.. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO 3 NIVELES MAS BLANCO	$CV \leq 10\%$ (entre inyecciones) $r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9916$ $CV < 10\%$ (entre inyecciones)
LINEALIDAD Y REPETIBILIDAD DEL SISTEMA PARA NIMESULIDA MATERIA PRIMA	RANGO DE 50%- 150 % DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. SEXTADUPLICAS NIVEL DE 100%, PARA REPETIBILIDAD. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO. 3 NIVELES MAS BLANCO.	$r^2 \geq 0.98$ $CV \leq 10\%$ (entre inyecciones) Para Repetibilidad: $CV \leq 10\%$ (entre inyecciones) $CV \leq 5\%$ (entre resultados)	$r^2 = 0.995$ $CV < 10\%$ (entre inyecciones) Para Repetibilidad: $CV < 10\%$ (entre inyecciones) $CV < 5\%$ (entre resultados)
FACTOR DE RECUPERACIÓN PARA NIMESULIDA	RANGO DE 100% DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm, INOCULADO EN PLACA. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO. 6 REPETICIONES MÁS BLANCO.	Recobros entre 80 % - 120 % $CV \leq 10\%$ (entre inyecciones) $CV \leq 5\%$ (entre resultados)	Recobro = 100.93 % $CV < 10\%$ (entre inyecciones) $CV < 5\%$ (entre resultados)



LINEALIDAD Y EXACTITUD DEL MÉTODO PARA NIMESULIDA MATERIA PRIMA	RANGO DE 50 % - 150 % DE CONCENTRACIÓN POR PESADAS INDEPENDIENTES, DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. EN PLACA. PARA EXACTITUD SEXTADUPLICAR NIVEL DE 100 %. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO. 3 NIVELES MAS BLANCO.	$r^2 \geq 0.98$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) Eficiencia de recobros entre 85% - 115%	$r^2 = 0.9987$ CV < 10 % (entre inyecciones) CV < 5 % (entre resultados) Eficiencia de recobro: 103.32 %
LÍMITE DE DETECCIÓN	RANGO DE 5% - 20% DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO 4 NIVELES MÁS 5 BLANCOS.	$r^2 \geq 0.98$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LD será solo informativo	$r^2 \geq 0.992$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LD = 2,771 ppm
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	RANGO DE 5% - 20% DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO 4 NIVELES MÁS 5 BLANCOS.	$r^2 \geq 0.98$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LC será solo informativo	$r^2 \geq 0.992$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LC = 7,74 ppm

Los reportes de resultados específicos para cada uno de los parámetros evaluados se encuentran en el Anexo 4.1



5.1.2 Validación del método analítico TOC para Estavudina

PRUEBA	PREPARACIÓN DE MUESTRAS	ESPECIFICACIONES	RESULTADOS
ADECUABILIDAD DEL SISTEMA	ANÁLISIS CON SACAROSA COMO SOLUCIÓN ESTANDAR Y 1-4 BENZOQUINONA COMO SOLUCION DE ADECUABILIDAD USP	Eficiencia entre 85-115%	100.03 % de Eficiencia
LINEALIDAD DE SISTEMA CON BIFTALATO DE POTASIO	RANGO DE 50% - 150 % DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LIMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm.. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO 3 NIVELES MAS BLANCO	$CV \leq 10 \%$ (entre inyecciones) $r^2 \geq 0.98$	$r^2 = 0.9916$ $CV < 10 \%$ (entre inyecciones)
LINEALIDAD Y REPETIBILIDAD DEL SISTEMA PARA ESTAVUDINA MATERIA PRIMA	RANGO DE 50 %- 150 % DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. SEXTADUPLICAS NIVEL DE 100%, PARA REPETIBILIDAD. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO. 3 NIVELES MAS BLANCO.	$r^2 \geq 0.98$ $CV \leq 10 \%$ (entre inyecciones) Para Repetibilidad: $CV \leq 10 \%$ (entre inyecciones) $CV \leq 5 \%$ (entre resultados)	$r^2 = 0.9999$ $CV < 10 \%$ (entre inyecciones) Para Repetibilidad: $CV < 10 \%$ (entre inyecciones) $CV < 5 \%$ (entre resultados)
FACTOR DE RECUPERACIÓN PARA ESTAVUDINA	RANGO DE 100% DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm, INOCULADO EN PLACA. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO. 6 REPETICIONES MÁS BLANCO.	Recobros entre 80 % - 120 % $CV \leq 10 \%$ (entre inyecciones) $CV \leq 5 \%$ (entre resultados)	Recobro = 96.58 % $CV < 10 \%$ (entre inyecciones) $CV < 5 \%$ (entre resultados)



LINEALIDAD Y EXACTITUD DEL MÉTODO PARA ESTAVUDINA MATERIA PRIMA	RANGO DE 50 % - 150 % DE CONCENTRACIÓN POR PESADAS INDEPENDIENTES, DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. EN PLACA. PARA EXACTITUD SEXTADUPLICAR NIVEL DE 100 %. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO. 3 NIVELES MAS BLANCO.	$r^2 \geq 0.98$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) Eficiencia de recobros entre 85% - 115%	$r^2 = 0.9961$ CV < 10 % (entre inyecciones) CV < 5 % (entre resultados) Eficiencia de recobro: 101.14 %
LÍMITE DE DETECCIÓN	RANGO DE 5% - 20% DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO 4 NIVELES MÁS 5 BLANCOS.	$r^2 \geq 0.98$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LD será solo informativo	$r^2 \geq 0.9951$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LD = 0.185ppm
LÍMITE DE CUANTIFICACIÓN	RANGO DE 5% - 20% DE CONCENTRACIÓN DE ACUERDO AL LÍMITE DE ACEPTACIÓN DE 10 ppm. MUESTRAS INYECTADAS POR DUPLICADO 4 NIVELES MÁS 5 BLANCOS.	$r^2 \geq 0.98$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LC será solo informativo	$r^2 \geq 0.9951$ CV \leq 10 % (entre inyecciones) CV \leq 5 % (entre resultados) El valor del LC = 0,562 ppm

Los reportes de resultados específicos para cada uno de los parámetros evaluados se encuentran en el Anexo 4.2



5.2 ESTUDIOS DE RECOBRO

Factor de recuperación de Nimesulida: 100.93 % ó 1.0093

Factor de Recuperación de Estavudina: 96.58 % ó 0.9658

5.3 RESULTADOS DE LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA DE LOS EQUIPOS

5.3.1. Trazas De Principios Activos

Ya concluido el proceso de limpieza de cada uno de los equipos, se realizó la inspección visual de cada uno de ellos y al no encontrarse visiblemente ningún residuo se procedió a la toma de muestras.

Principio Activo: **Nimesulida**

Limite Analítico de Aceptación de residuos: 3.56 ppm de Carbono/ hisopo

Equipo: BASCULA BAS-27

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	
1	Bascula	0,418	0,251	0,165
2	Bascula	0,175	0,071	0,137
3	Mesa	0,184	0,012	0,141
4	Campana	0,578	0,206	0,098

Equipo: TAMIZADOR TAM-02

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	
1	Tolva de salida de polvo	0,342	0,024	0,795
2	Esquina del soporte para tapa	0,246	0,468	1,517
3	Malla	0,217	1,925	1,333
4	Rejilla de protección	0,380	0,119	1,161
5	Tornillo de rodillo	0,273	0,839	1,322
6	Rodillo	0,314	0,613	0,979



Equipo: MEZCLADOR EN "V" MEZ-01

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	lote 3
1	Parte interna superior	0,135	1,649	1,316
2	Unión media del mezclador	0,139	0,407	0,400
3	Tapa del mezclador	0,171	0,413	2,961
4	Cuello de descarga	0,164	0,772	0,968
5	Parte interna media (remache)	0,170	0,769	2,295
6	Pared lateral media	0,129	1,367	0,541

Equipo: COMPACTADOR COM-01

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	lote 3
1	Tolva de descarga	0,120	1,266	1,752
2	Rodillo	0,116	1,395	1,107
3	Malla	0,040	0,574	1,714
4	Parte inferior de tornillo	0,135	0,208	0,652
5	Tornillo	0,145	1,237	0,824
6	Tolva entrada	0,151	1,085	0,893

Equipo: TABLETADORA TAB-04 Y DESEMPOLVADOR DES-02

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	lote 3
1	Tolva, Salida de polvo	0,157	0,167	0,344
2	Fondo de la Tolva de alimentación	0,147	0,668	1,169
3	Corona	0,144	1,141	1,735
4	Plato porta matrices	0,783	0,843	2,080
5	Parte interna Distribuidor	0,309	0,594	1,305
6	Punzón	0,207	1,076	1,874
7	Colector de tabletas del desempolvador	0,195	1,517	0,673
8	Cilindro del desempolvador	0,190	0,498	0,817



Equipo: EMBLISTEADORA

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	
1	Estación de termoformado	0,103	0,118	0,044
2	Estación de alimentación manual	0,133	0,131	0,631
3	Estación de sellado	0,174	0,284	0,340
4	Estación de alimentación	0,077	0,104	0,225
5	Estación de sellado	0,149	0,104	0,295

Principio Activo: **Estavudina**

Limite Analítico de Aceptación de residuos: **3.73** ppm de Carbono/ hisopo

Equipo: BASCULA BAS-27

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	
1	Bascula	0,624	0,175	1,277
2	Bascula	0,140	0,145	0,476
3	Mesa	0,209	0,758	0,523
4	Campana	0,195	0,263	0,550

Equipo: TAMIZADOR TAM-02

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	
1	Tolva de salida de polvo	0,661	0,277	0,208
2	Esquina del soporte para tapa	0,655	0,354	0,624
3	Malla	0,790	0,322	0,499
4	Rejilla de protección	0,379	0,352	0,409
5	Tornillo de rodillo	2,834	1,659	2,805
6	Rodillo	0,459	0,260	0,285



Equipo: MEZCLADOR MEZ-01

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	lote 3
1	Parte interna superior	0,160	0,104	0,285
2	Unión media del mezclador	0,530	0,383	0,295
3	Tapa del mezclador	0,217	0,376	0,215
4	Cuello de descarga	0,698	0,287	0,280
5	Parte interna media (remache)	0,315	0,243	0,254
6	Pared lateral media	0,507	0,209	0,322

Equipo: MEZCLADOR MEZ-01

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	lote 3
1	Parte interna superior	0,160	0,104	0,285
2	Unión media del mezclador	0,530	0,383	0,295
3	Tapa del mezclador	0,217	0,376	0,215
4	Cuello de descarga	0,698	0,287	0,280
5	Parte interna media (remache)	0,315	0,243	0,254
6	Pared lateral media	0,507	0,209	0,322

Equipo: ENCAPSULADORA ZANAZI CAP-01

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	lote 3
1	Matriz de expulsión	0,558	1,052	2,106
2	Unión e aspiradora	0,288	1,044	0,807
3	Tolva principal	0,188	1,012	0,489
4	Canal parte media	0,172	0,883	0,646
5	Guía	0,114	0,114	0,381
6	Dosificador	0,108	0,414	0,644



Equipo: CONTADORA VERSACOUN VER-01

Número de muestra	Localización	ppm de Carbono/hisopo		
		lote 1	lote 2	
1	contenedor	0,183	0,164	0,616
2	Salida de contador	0,669	0,096	0,495
3	Parte interna de la tolva	0,487	0,115	0,578
4	malla	0,378	0,112	0,650
5	disco	0,386	0,223	2,289
6	Banda acarreadora	0,344	0,061	1,738

5.3.2 Trazas De Sanitizante

RESULTADOS DE AGUA DE ENJUAGUE FINAL

Para calcular la concentración de Sanitizante se prepararon curvas de calibración (concentración Vs. Conductividad) para cada uno de los sanitizantes empleados en APOTEX (Ver anexo 11).

EQUIPO	Concentración de sanitizante (ppm) *			LAAR (ppm)
	Lote 1	Lote 2	Lote 3	
Bascula	78.6	59.8	64.8	800
Tamizador	18.7	45.7	97.6	800
Mezclador	49.5	64.8	36.7	800
Compactador	31.2	84.6	67.4	800
Tableteadora	12.8	48.1	58.7	800
Desempolvador	16.3	16.7	39.4	800
Encapsuladora	46.3	28.4	75.4	800
Contadora	86.4	38.4	91.5	800
Blisteadora	31.7	64.8	36.7	800

* Se utilizó la ecuación de la recta correspondiente al Sanitizante en turno.

5.3.3. Resultados Microbiológicos

Los resultados obtenidos del análisis microbiológico son:

- Ausencia de microorganismos objetables (*Pseudomona aeruginosa*, *E. coli*, *Salmonella* y *Staphylococcus aureus*) en todos los equipos.
- Ausencia de hongos y levaduras en todos los equipos.

En el Anexo 12 se ejemplifica el reporte de validación para Nimesulida



6. DISCUSIÓN

A lo largo de este trabajo se propuso un plan maestro para la validación de procesos de limpieza de equipos que participaron en la fabricación de medicamentos sólidos orales.

Los resultados obtenidos del análisis de trazas de principios activos, sanitizantes y microbiológico se encuentran dentro de los límites de aceptación establecidos.

Los parámetros establecidos para la validación del método analítico por Carbono Orgánico Total, se encuentran dentro de especificación, lo cual nos indica la confiabilidad del método para la detección de los activos seleccionados.

Los recobros obtenidos al ser superiores al 75 % nos demuestran que los métodos de muestreo empleados son los adecuados para el monitoreo de los equipos.

En este caso al hacer la matriz de selección del "peor caso" se puede observar que son dos productos los determinados como peores casos, y uno de ellos es insoluble en agua.

Pese a que una de las limitantes del método TOC es la solubilidad de los principios activos en agua, en el desarrollo de este trabajo se puede comprobar que se pueden utilizar otro tipo de disolventes que no contengan en su estructura moléculas de carbono como ácidos y bases a muy bajas concentraciones.



En el caso de Nimesulida se hicieron estudios de solubilidad y se encontró que era soluble en bases, se utilizó Hidróxido de Sodio a una concentración 0.01 N sin causar ningún tipo de daño al TOC y sin que represente ningún riesgo a los equipos de fabricación, operadores, analistas y al producto en sí.

Al utilizar el método TOC, no se puede diferenciar entre trazas de activos, sanitizantes, detergentes, etc., ya que es un método inespecífico pero para corroborar que realmente se están eliminando trazas de sanitizante hasta un nivel aceptable, se decidió utilizar el análisis conductimétrico obteniéndose resultados satisfactorios en todos los equipos evaluados.

La elección de los Límites de Aceptación Analíticos de Residuos depende de cada compañía, en este caso se decidió realizar los cálculos necesarios utilizando los tres criterios científicamente justificados y seleccionar el límite más conservador, es decir, el valor más bajo y todos los resultados obtenidos del análisis de trazas de principios activos se encuentra dentro de nuestro límite establecido.

Los puntos de muestreo seleccionados se establecieron principalmente considerando los posibles lugares donde pudiera haber acumulación de producto y con base en la experiencia de los operadores.

En este trabajo solo se consideran los equipos y no las áreas de fabricación puesto que ciertamente lo que tiene contacto directo con los productos son los equipos, pero se puede realizar una inspección de puntos significativos de las áreas como son: rejillas, difusores, colectores de polvos, etc.



7. CONCLUSIONES

Se cumplió con el objetivo de este trabajo ya que permitió establecer evidencias documentadas de que los procedimientos de limpieza de los equipos utilizados para la fabricación de Nimesulida y Estavudina, son adecuados para evitar la contaminación cruzada entre productos.

Se consideran validados los PNO's de limpieza de los siguientes equipos que participan en la fabricación de Tabletas de Nimesulida y Cápsulas de Estavudina.

Bascula	BAS-27
Tamizador	TAM-05
Compactador	COM-01
Mezclador	MEZ-01
Encapsuladora Zanazi	CAP-001
Tableteadora	TAB-04
Desempolvador	DES-01
Contadora Versacount	VER-01
Blisteadora	BLI-01

El método analítico propuesto para la detección de trazas de principios activos cumple con los parámetros establecidos de validación y un método analítico validado asegura la confiabilidad del método, lo cual nos permite avalar los resultados obtenidos durante la validación de los procesos de limpieza y así poder asegurar la calidad de los productos.

El método de Carbono Orgánico Total es recomendable para la validación de procesos de limpieza por ser un método, rápido, de baja sensibilidad, fácil preparación de muestras, bajo costo comparado con otros métodos y puede detectar todos los residuos que contengan carbono, sin limitarse a productos solubles en agua.



8. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

Es importante que dentro de la capacitación de los operadores se haga énfasis en las consecuencias que puede traer una contaminación cruzada entre productos, ya que son ellos los que realizan la limpieza de los equipos y también involucrarlos en la elaboración de los procedimientos de limpieza.

En caso de que el principio activo no sea insoluble en agua se propone lo siguiente:

1. - Realizar pruebas de solubilidad utilizando como disolventes ácidos o bases que en su estructura química no contengan carbono a concentraciones menores a 1N, ya que en este trabajo se obtuvieron buenos resultados al utilizar como disolvente hidróxido de sodio a una concentración de 0.01 N al validar el método analítico para Nimesulida.
2. - Si es insoluble en agua, ácidos y bases, pero es soluble en metanol, se puede utilizar el método TOC cambiando el catalizador del TOC por uno de alta sensibilidad, metiendo un blanco del mismo disolvente.
3. – En caso de no contar con el catalizador de alta sensibilidad, se puede emplear el método TOC combinado con el HPLC por medio de recobros.

ANEXO 1

PROPIEDADES FÍSICOQUÍMICAS DE LOS PRINCIPIOS ACTIVOS FABRICADOS EN APOTEX, MEXICO

Principio Activo	Nombre Comercial	CONCENTRACION (mg)		Solubilidad en agua 25 ° C*	DL 50 (mg/Kg)	DOSIS DIARIA		Limite de Detección Visual *
		MIN	MAX			Minima	Máxima	
L-alfa metildopa	PRODOP	250	500	2	>10 000	250 mg (2-3 día)	3 gramos	4
Trimetoprim /Sulfametoxazol	APO-TRINELAX	80	-	3	3662	320 mg	640 mg	1
Enalapril	APO-PYL	10	20	1	2 000	10 mg	40 mg	5
Nimesulida	APOLIDE	-	100	3	324	200 mg	400 mg	1
Furosemida	FUROTER	20	40	3	2600	40 mg	80 mg	4
Clortalidona	GI	-	50	3	> 5000	12,5 mg	200 mg	5
Naproxeno	GI	-	250	3	1234	500 mg	1500 mg	5
Naproxeno Na	NASOCAN	275	550	1	400	825 mg	1375 mg	5
Estavudina	APOSTAVIN A	-	40	2	822	20 mg	80 mg	4
Metronidazol	METRICOM	250	500	2	3000	1000 mg	2 g	4
Ambroxol	PROSPEC	-	30	3	13400	30 mg	90 mg	4
Ibuprofeno	GOBROSAN	-	400	3	1050	1600 mg	2400 mg	5
Isosorbida	INSUCAR	-	10	3	1 100	40 mg	80 mg	5
Aciclovir	APO-VIR	200	-	2	> 10 000	400 mg	800 mg	5
Zidovudina	ZIDOVIR	100	250	2	3062	500 mg	600 mg	5

* Esta clasificación corresponde a la TABLA 1. - Clasificación de principios activos por sus características de solubilidad y la TABLA 4. - Clasificación de principios activos por detección visual que se encuentran en la parte de antecedentes de este trabajo.



ANEXO 2

Clasificación de productos dependiendo de su Descripción terapéutica y elección del grupo de productos más tóxicos

Descripción Terapéutica	Principio Activo
Hipertensivos	- L-alfa metildopa - Enalapril
Antiinflamatorios	- Naproxeno Sódico - Naproxen - Ibuprofeno - Nimesulida ←
Antibióticos	- Trimetoprim / Sulfametoxazol
Mucolítico	- Ambroxol
Antiparasitario	- Metronidazol
Retrovirales	- Aciclovir - Zidovudina - Estavudina ←
Diuréticos	- Furosemida - Clortalidona - Isosorbida

Nota: De acuerdo con los datos de toxicidad de los principios activos (Anexo 1), los productos más tóxicos que se fabrican en la planta de Apotex México, son los del grupo de medicamentos retrovirales y antiinflamatorios, por lo tanto la elección del peor caso se enfoca en estos dos grupos.



ANEXO 3

MATRIZ DE SELECCIÓN DEL PRODUCTO

Sustancia	a): * Dificultad para limpiar	b): Solubilidad	c): Toxicidad	d): Dosis terapéutica	e): Limite de detección Visual	f): Otro
Aciclovir	2.3	2	2	2	4	NA
Estavudina	2.8	2	2	3	4	NA
Zidovudina	2.1	2	2	2	4	NA
Naproxeno sódico	1.8	1	2	2	5	NA
Ibuprofeno	2.1	2	2	1	4	NA
Nimesulida	3	3	3	2	1	color amarillo

* Se hace el promedio de los valores de las respuestas obtenidas de los supervisores y operadores

Esta clasificación corresponde a:

TABLA 1- Clasificación de principios activos por características de solubilidad

TABLA 2 -Clasificación de principios activos por características de Toxicidad

TABLA 3 -Clasificación de principios activos por dosis terapéutica

TABLA 4 -Clasificación de principios activos por detección visual

Estas tablas se encuentran en la parte de antecedentes de este trabajo.

Como se puede observar en la tabla anterior los principios activos que serian nuestro "peor caso", serian NIMESULIDA por solubilidad, toxicidad y dificultad de limpieza y ESTAVUDINA, por toxicidad, dosis terapéutica y dificultad de limpieza.



ANEXO 4.1

RESULTADOS DE LA VALIDACION DEL MÉTODO ANALÍTICO

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)	
PARAMETROS DE DESEMPEÑO	
Principio Activo a Evaluar: <u>Sacarosa, 1,4-Benzoquinona</u>	Método: <u>TOC</u>
PARAMETRO: Adecuabilidad del Sistema	
FÓRMULA	
$RE = 100 \left[\frac{(rSB - rSW)}{(rST - rSW)} \right]$ <p style="text-align: right;"><i>DONDE:</i></p> <p style="margin-left: 40px;"> RE = Respuesta de eficiencia Rsb = Respuesta de 1-4 Benzoquinona rSW = Respuesta del Blanco rST = Respuesta de Sacarosa </p> <p style="text-align: center;"><i>Pureza del estándares (USP)</i></p> <p style="margin-left: 40px;"> <i>1-4 Benzoquinona Lote: G1B145</i> <i>Sacarosa Lote: H1C223</i> </p> <p style="margin-left: 40px;"> <i>Sacarosa = 1.19 ppm equivale = 0.5 ppm de carbon (15.0 mg/100 x 2/100)</i> <i>1-4 Benzoquinona = 0.75 ppm equivale = 0.5 ppm de carbon (18.7 mg/100 x 2/200)</i> </p>	
Cálculo	
Peso real de Sacarosa = 15.5 mg	Corrección por peso $\frac{15.5}{15.0}$
$Área = 2.204 \times 1.033 = 2.278$	
Peso real de 1-4 Benzoquinona = 18.7 mg	Corrección por peso $\frac{18.7}{18.7}$
$Área = 2.278 \times 1.00 = 2.278$	
$RE = (100) \frac{(2.278 - 1.623)}{(2.278 - 1.623)} = 100.03 \%$	
Criterio de Aceptación	
El sistema es adecuado si la respuesta de eficiencia es no menos de 85% y no más de 115% de la respuesta teórica.	
Conclusión	
La respuesta de la eficiencia cumple el criterio de aceptación Por lo tanto el Analizador de Carbono Orgánico Total es adecuado para su uso.	

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: Bifalato de Potasio

Método: TOC

PARAMETRO: **Linealidad del sistema Bifalato de Potasio**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de carbono orgánico total dentro de un rango

PLAN DE PRUEBA:

Se determina, construyendo una curva de concentraciones (concentración vs. Respuesta) utilizando Bifalato de Potasio y cuando menos tres diluciones y un blanco

RESULTADOS:

Solución	Concentración		Nivel
Blanco	0,00	ppm	0%
1	5,01	ppm	50%
2	10,03	ppm	100%
3	15,02	ppm	150%

STD No.	X (%)	AREAS	PROMEDIO	CV %
1	0	5,782	5,65	3,42
		5,509		
2	50	14,71	14,80	0,81
		14,88		
3	100	27,6	27,21	2,03
		26,82		
4	150	41,03	41,20	0,58
		41,37		

Linealidad del sistema

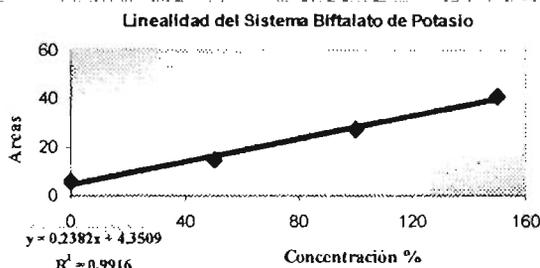
$r = 0,9957$

$r^2 = 0,9916$

Criterios de aceptación

CV \leq 10%

El valor de r^2 es mayor de 0.97



CONCLUSION: La concentración de carbono orgánico dentro del sistema analítico TOC es proporcional a la señal de respuesta con CV menores al 10 %, por lo tanto se cumple con los criterios de aceptación predeterminados para la linealidad del sistema.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: NIMESULIDA

Método: TOC

PARAMETRO: **Linealidad del sistema (Nimesulida)**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de carbono orgánico total dentro de un rango

PLAN DE PRUEBA:

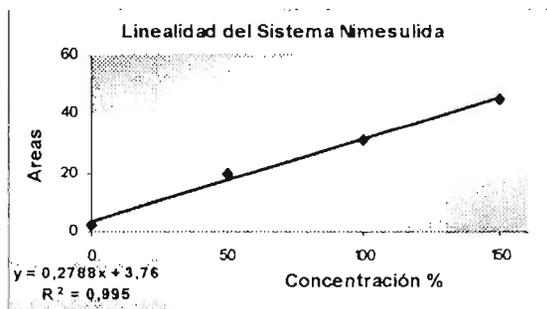
Se determina, construyendo una curva de concentraciones (concentración vs. Respuesta) utilizando Nimesulida materia prima, y cuando menos tres diluciones y un blanco

RESULTADOS:

Solución	Concentración	Nivel
Blanco	0,00 ppm	0%
1	5,011 ppm	50%
2	10,02 ppm	100%
3	15,03 ppm	150%

STD No.	X (%)	AREAS	PROMEDIO	CV %
1	0	2,819	2.74	4.08
		2,661		
2	50	19,67	19.55	0.83
		19,44		
3	100	31,34	31.14	0.91
		30,94		
4	150	45,74	45.29	1.39
		44,85		

Linealidad del sistema	
r =	0,9974
r ² =	0,995
Criterios de aceptación	
CV ≤ 10%	
El valor de r ² es mayor de 0.97	



CONCLUSION:

La concentración de carbono orgánico dentro del sistema analítico TOC es proporcional a la señal de respuesta con CV menores al 10 %, por lo tanto se cumple con los criterios de aceptación predeterminados para la linealidad del sistema para Nimesulida.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: NIMESULIDA

Método: TOC

PARAMETRO: **Repetibilidad del sistema**

OBJETIVO DE LA PRUEBA:

Demostrar la reproducibilidad del equipo entre inyecciones independientes y resultados

PLAN DE PRUEBA:

El análisis se realiza con una concentración conocida del activo (generalmente 10 ppm) y se utiliza la curva de calibración que se elaboro para linealidad del sistema. Se calculan los promedios y los coeficientes de variación de las áreas, entre inyecciones independientes y resultados.

RESULTADOS:

		Área	Promedio de áreas	CV inyecciones
Muestra 1	inyección 1	30,34	30.25	0.4442
	inyección 2	30,15		
Muestra 2	inyección 1	30,24	30.08	0.7522
	inyección 2	29,92		
Muestra 3	inyección 1	30,74	30.61	0.5774
	inyección 2	30,49		
Muestra 4	inyección 1	30,24	30.24	0.0
	inyección 2	30,24		
Muestra 5	inyección 1	30,59	30.57	0.0925
	inyección 2	30,55		
Muestra 6	inyección 1	30,3	30.23	0.3275
	inyección 2	30,16		

Promedio = **30.33**

CV entre resultados = **0.0095 %**

CRITERIO DE ACEPTACION

CV entre inyecciones - menor 10 %

CV entre resultados - menor 5%

CONCLUSIONES:

El método analítico TOC cumple con los criterios de aceptación para repetibilidad del sistema al tener un CV entre inyecciones menor a 10 % y entre resultados menor a 5 %

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: NIMESULIDA Método: TOC

PARAMETRO: **Factor de Recobro**

OBJETIVO:

Determinar la cantidad de principio activo que se recupera experimentalmente por medio de la técnica de raspado con hisopo.

PLAN DE PRUEBA:

La cantidad de principio activo recuperada se calcula con la siguiente formula

$$\% \text{ de activo recuperado} = (\text{ppm recuperadas} - \text{ppm blanco}) / (\text{ppm adicionadas}) * 100$$

Las ppm recuperadas son el resultado directo calculado de la curva de principio activo a analizar en ppm de TOC, en los diferentes niveles de concentración de activo, tomando como referencia la concentración del criterio de aceptación, que es de 10 ppm.

Las ppm adicionadas son la cantidad inoculada en las placas de acero inoxidable de 25 cm², en ppm de TOC.

RESULTADOS:

BLANCO

	Placa 1	Placa 2
inyección 1	4.22	4.36
inyección 2	4.16	4.28

Promedio	4.19	4.32
----------	------	------

Blanco promedio = 4.255 ppm

MUESTRA

			Promedio (ppm)	CV (%)	Activo recuperado (ppm recup - ppm bco)/(ppm adicionadas)
Placa 1	inyección 1	14,58	14,62	0.39	10.37
	inyección 2	14,66			
Placa 2	inyección 1	13,89	13,94	0.46	9.68
	inyección 2	13,98			
Placa 3	inyección 1	14,32	14,22	1.04	9.96
	inyección 2	14,11			
Placa 4	inyección 1	14,81	14,72	0.91	10.46
	inyección 2	14,62			
Placa 5	inyección 1	14,44	14,46	0.20	10.21
	inyección 2	14,48			
Placa 6	inyección 1	14,1	14,14	0,35	9.88
	inyección 2	14,17			

Promedio = 10.09
CV = 3.98 %

| **Factor de recuperación** = promedio de activo recuperado * 100 = **100.93 %**

CONCLUSION: La cantidad real de Nimesulida que se recupera de un área de 25 cm² en placas de acero inoxidable es de 96.58%.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: NIMESULIDA

Método: TOC

PARAMETRO: **Linealidad del Método**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado de eficiencias en recobro para Nimesulida.

PLAN DE PRUEBA:

Se determina, inoculando placas de acero inoxidable de 5 x 5 cm, utilizando cuando menos tres niveles de concentración, preparados en forma independiente, para probar el % de eficiencia en recobros utilizando el método de raspado con hisopos. Reportar el promedio de las inyecciones para cada una de las muestras.

RESULTADOS:

Solución	Concentración (ppm)	Nivel
Blanco	0,0000	0%
1	5,0575	50%
2	10,1149	100%
3	15,1720	150%

Muestra No.	X (ppm adic.)	Y(ppm recup.)	% Eficiencia
Blanco	0	0	0
1	5,031	5,194	103,2
2	10,062	10,087	100,2
3	15,093	15,924	105,5

Criterios de aceptación

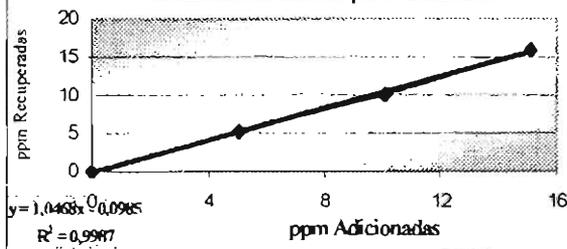
$r^2 = 0,9987$

Criterios de aceptación

El valor de r^2 es mayor a 0.97

Todos los % de Eficiencia estarán entre 85%-115%

Linealidad del método para Nimesulida



CONCLUSION: La metodología analítica para los recobros por raspado con hisopo para Nimesulida es adecuada para el uso que se pretende y cumple con los criterios de aceptación predeterminados para la linealidad del método.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: NIMESULIDAMétodo: TOCPARAMETRO: **Exactitud del Método****OBJETIVO DE LA PRUEBA:**

Determinar la relación entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia

PLAN DE PRUEBA:

Se inocula una cantidad conocida de analito (10 ppm) y se recupera por medio de la técnica de raspado con hisopo. En total se preparan seis muestras y se obtiene el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje.

RESULTADOS:

Número de Inyección	Concentración (ppm)	
	Placa 1	Placa 2
Inyección 1	8,716	8,162
Inyección 2	8,411	8,127

Promedio =	8,564	8,145
------------	--------------	--------------

Blanco Promedio = 8.35 ppm

MUESTRAS.

	No. de Inyección	ppm	Promedio	% DE EFICIENCIA
Placa 1	1	19,11	18,93	105,06%
	2	18,74		
Placa 2	1	18,75	18,67	102,48%
	2	18,58		
Placa 3	1	18,41	18,45	100,29%
	2	18,48		
Placa 4	1	18,65	18,68	102,63%
	2	18,71		
Placa 5	1	18,9	18,86	104,41%
	2	18,82		
Placa 6	1	19,13	18,93	105,06%
	2	18,72		

Promedio 103,32%
C.V. = 1,82%

CONCLUSION: La relación que existe entre el valor de referencia (100%) y el valor real que se obtiene al emplear el método es de 103 %

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: NIMESULIDA

Método: TOC

PARAMETRO: **Límite de Detección (LD) y Cuantificación (LC)**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Determinar la concentración mínima del analito que puede ser detectada con c precisión y exactitud aceptables (LC) y la concentración mínima de analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada (LD), bajo las condiciones de operación establecidas.

PLAN DE PRUEBA:

El LD y LC, se determinaran con base en curva de calibración y desviación estándar de los blancos

RESULTADOS:

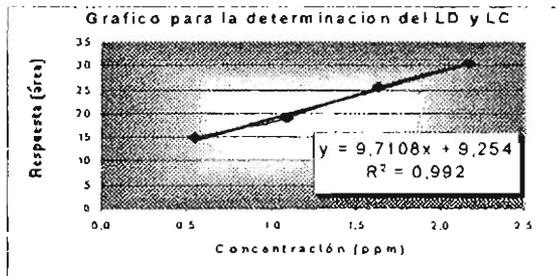
Blancos

Muestra	Area
1	11,050
2	11,095
3	10,347
4	11,360
5	10,940

Datos de Gráfico:

Promedio del área de los blancos = 10.958

Concentración (ppm)	Respuesta
0,54	15,02
1,09	18,94
1,63	25,35
2,18	30,05



Error Estándar de la regresión = 0,7516

Límite de Detección:

Extrapolando en la curva

Area del blanco * 3.3 = 10.9584 * 3.3 = 36,1628

Considerando el Error estándar de la regresión

LD = $(3.3 \cdot \sigma) / S = 2,7710$

LD= 2,7710 ppm

Límite de Cuantificación:

Extrapolando en la curva

Area del blanco * 10 = 10,9584 * 10 = 109,5844

Considerando el Error estándar de la regresión

LC = $(10 \cdot \sigma) / S = 7,74$

LC= 7,74 ppm

CONCLUSION: El límite de Detección es menor al límite analítico de aceptación de residuos de Nimesulida

ANEXO 4.2

RESULTADOS DE LA VALIDACION DEL MÉTODO ANALITICO TOC PARA ESTAVUDINA

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: ESTAVUDINA Método: TOC

PARAMETRO: **Linealidad del sistema (Estavudina)**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de carbono orgánico total dentro de un rango

PLAN DE PRUEBA:

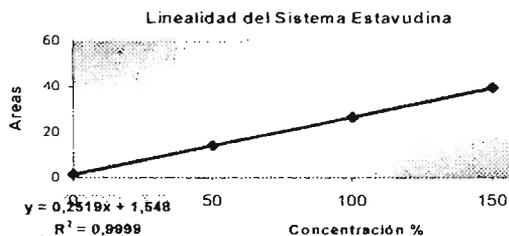
Se determina, construyendo una curva de concentraciones (concentración vs. Respuesta) utilizando Estavudina materia prima, y cuando menos tres diluciones y un blanco

RESULTADOS:

Solución	Concentración		Nivel
Blanco	0,00	ppm	0%
1	5,057	ppm	50%
2	10,11	ppm	100%
3	15,17	ppm	150%

STD No.	X (%)	AREAS	PROMEDIO	CV %
1	0	1,712	10.	4,56
		1,605		
2	50	13,96	14,08	1,21
		14,2		
3	100	26,68	26,53	0,27
		26,48		
4	150	39,83	39,49	1,22
		39,15		

Linealidad del sistema	
r =	0,9989
r ² =	0,9999
Criterios de aceptación	
CV ≤ 10%	
El valor de r ² es mayor de 0.97	



CONCLUSION: La concentración de carbono orgánico dentro del sistema analítico TOC es proporcional a la señal de respuesta con CV menores al 10 %, por lo tanto se cumple con los criterios de aceptación predeterminados para la linealidad del sistema para Estavudina

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: ESTAVUDINA

Método: TOC

PARAMETRO: **Repetibilidad del sistema**

OBJETIVO: Demostrar la reproducibilidad del equipo entre inyecciones independientes y resultados

PLAN DE PRUEBA: El análisis se realiza con una concentración conocida del activo (generalmente 10 ppm) y se utiliza la curva de calibración que se elaboro para linealidad del sistema

Se calculan los promedios y los coeficientes de variación de las áreas, entre inyecciones independientes y resultados.

RESULTADOS:

		Área	Promedio de áreas	CV inyecciones
Muestra 1	inyección 1	26,21	26,23	0,11%
	inyección 2	26,25		
Muestra 2	inyección 1	26,39	26,49	0,53%
	inyección 2	26,59		
Muestra 3	inyección 1	26,43	26,25	0,97%
	inyección 2	26,07		
Muestra 4	inyección 1	26,36	26,19	0,92%
	inyección 2	26,02		
Muestra 5	inyección 1	26,53	26,29	1,32%
	inyección 2	26,04		
Muestra 6	inyección 1	26,48	26,29	1,02%
	inyección 2	26,1		

Promedio = **26,289**

CV entre resultados = **0,0162%**

CRITERIO DE ACEPTACION

CV entre inyecciones - menor 10 %

CV entre resultados - menor 5%

CONCLUSIONES:

El método analítico TOC cumple con los criterios de aceptación para repetibilidad del sistema al tener un CV entre inyecciones menor a 10 % y entre resultados menor a 5 %

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Prncipio Activo a Evaluar: ESTAVUDINA

Método: TOC

PARAMETRO: **Factor de Recobro**

OBJETIVO:

Determinar la cantidad de principio activo que se recupera experimentalmente por medio de la técnica de raspado con hisopo.

PLAN DE PRUEBA:

La cantidad de principio activo recuperada se calcula con la siguiente formula

$$\% \text{ de activo recuperado} = (\text{ppm recuperadas} - \text{ppm blanco}) / (\text{ppm adicionadas}) * 100$$

Las ppm recuperadas son el resultado directo calculado de la curva de principio activo a analizar en ppm de TOC, en los diferentes niveles de concentración de activo, tomando como referencia la concentración del criterio de aceptación, que es de 10 ppm.

Las ppm adicionadas son la cantidad inoculada en las placas de acero inoxidable de 25 cm², en ppm de TOC.

RESULTADOS:

BLANCO

No. de inyección	Concentración (ppm)	
	Placa 1	Placa 2
inyección 1	0,32	0,28
inyección 2	0,28	0,29

Promedio	0,30	0,2882
----------	------	--------

Blanco promedio = 0.2918 ppm

MUESTRA

	No. de inyección	Concentración (ppm)	Promedio (ppm)	CV (%)	Activo recuperado
					(ppm recup - ppm bco)/(ppm adicionadas)
Placa 1	inyección 1	9,291	9,3695	1,1849	9,0777
	inyección 2	9,448			
Placa 2	inyección 1	10,18	10,19	0,1388	9,8982
	inyección 2	10,2			
Placa 3	inyección 1	10,69	10,52	2,2853	10,2282
	inyección 2	10,35			
Placa 4	inyección 1	9,644	9,7105	0,9685	9,4187
	inyección 2	9,777			
Placa 5	inyección 1	10,19	10,065	1,7564	9,7732
	inyección 2	9,94			
Placa 6	inyección 1	9,897	9,8445	0,7542	9,5527
	inyección 2	9,792			

Promedio = 9.658
CV = 3.98 %

Factor de recuperación = promedio de activo recuperado * 100 = **96,58%**

CONCLUSION: La cantidad real de Estavudina que se recupera de un área de 25 cm² en placas de acero inoxidable es de 96.58%.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: ESTAVUDINA

Método: TOC

PARAMETRO: **Linealidad del Método**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia dentro de un rango determinado de eficiencias en recobro para Estavudina.

PLAN DE PRUEBA:

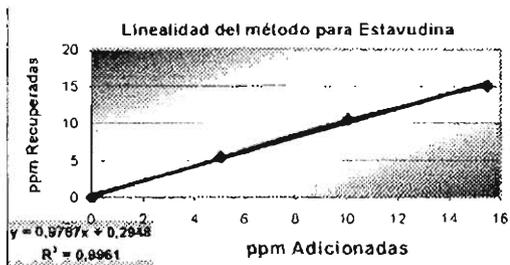
Se determina, inoculando placas de acero inoxidable de 5 x 5 cm, utilizando cuando menos tres niveles de concentración, preparados en forma independiente, para probar el % de eficiencia en recobros utilizando el método de raspado con hisopos. Reportar el promedio de las inyecciones para cada una de las muestras.

RESULTADOS:

Solución	Concentración (ppm)	Nivel
Blanco	0,0000	0%
1	5,038	50%
2	10,035	100%
3	15,460	150%

Muestra No.	X (ppm adic.)	Y(ppm recup.)	% Eficiencia
Blanco	0	0	
1	5.038	5.40	98
2	10.035	10.58	100.86
3	15.460	15.019	99.88

Linealidad del método	Eficiencia
$r^2 = 0,9961$	98-100%
Criterios de aceptación	
El valor de r^2 es mayor a 0.97	
Todos los % de Eficiencia estarán entre 85%-115%	



CONCLUSION:

La metodología analítica para los recobros por raspado con hisopo para Estavudina es adecuada para el uso que se pretende y cumple con los criterios de aceptación predeterminados para la linealidad del método.

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: ESTAVUDINA

Método: TOC

PARAMETRO: **Exactitud del Método**

OBJETIVO DE LA PRUEBA:

Deteminar la relación entre un valor obtenido empleando el método y el valor de referencia

PLAN DE PRUEBA:

Se inocula una cantidad conocida de analito (10 ppm) y se recupera por medio de la técnica de raspado con hisopo. En total se preparan seis muestras y se obtiene el cociente de la cantidad recuperada respecto de la cantidad adicionada expresada en porcentaje.

RESULTADOS:

Número de Inyección	Concentración (ppm)	
	Placa 1	Placa 2
Inyección 1	0.426	0.4962
Inyección 2	0.418	0.5097

Promedio =	0.422	0.503
------------	--------------	--------------

Blanco Promedio = 0.46 ppm

MUESTRAS:

	No. de Inyección	ppm	Promedio	% DE EFICIENCIA
Placa 1	1	10.46	10.49	99.88 %
	2	10.51		
Placa 2	1	10.42	10.54	100.37 %
	2	10.65		
Placa 3	1	10.91	10.91	104.06 %
	2	10.90		
Placa 4	1	10.49	10.54	100.42 %
	2	10.59		
Placa 5	1	10.83	10.56	100.62 %
	2	10.29		
Placa 6	1	10.36	10.65	101.47 %
	2	10.93		

Promedio 101,14%
C.V.= 1,50%

CONCLUSION: La relación que existe entre el valor de referencia (100%) y el valor real que se obtiene al emplear el método es de 101.1%

VALIDACION DEL METODO ANALITICO TOC (Carbono Orgánico Total)

PARAMETROS DE DESEMPEÑO

Principio Activo a Evaluar: ESTAVUDINA

Método: TOC

PARAMETRO: **Límite de Detección (LD) y Cuantificación (LC)**

OBJETIVO DE LA PRUEBA

Determinar la concentración mínima del analito que puede ser detectada con c precisión y exactitud aceptables (LC) y la concentración mínima de analito que puede ser detectada pero no necesariamente cuantificada (LD), bajo las condiciones de operación establecidas.

PLAN DE PRUEBA:

El LD y LC, se determinaran con base en curva de calibración y desviación estándar de los blancos

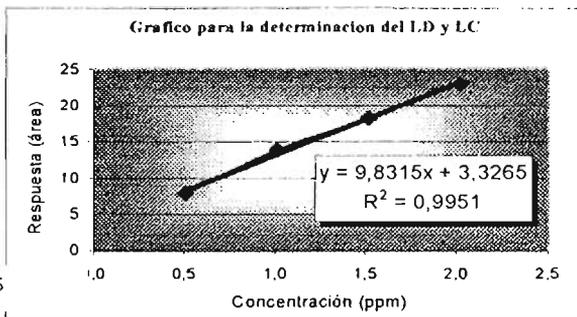
RESULTADOS:

Blancos

Muestra	Área
1	0,633
2	0,643
3	0,655
4	0,626
5	0,657

Datos de Gráfico:

Datos de Gráfico LD y LC	
Concentración (ppm)	Respuesta
0,51	7,886
1,01	13,91
1,52	18,29
2,03	23,03



Error Estándar de la regresión = 0,5535

Límite de Detección:

Extrapolando en la curva

Area del blanco * 3.3 = 0.6435 * 3.3 = 2.12

Extrapolando LD= 0.1857ppm

Considerando el Error estándar de la regresión

LD = (3.3*σ)/S = 0.1857

LD= 0.185 ppm

Límite de Cuantificación:

Extrapolando en la curva

Area del blanco * 10 = 0.6435 * 10 = 6,425

Extrapolando LC= 0.1857ppm

Considerando el Error estándar de la regresión

LC = (10*σ)/S = 0.3151

LC= 0.562 ppm

CONCLUSION: El límite de Detección es menor al límite analítico de aceptación de residuos de Estavudina



ANEXO 5

Tamaño de lote standard de productos fabricados en Apotex México

Principio Activo	Nombre Comercial	Tamaño de Lote		Dosis diaria máxima (unidades)
		Kg	Piezas	
L-alfa metildopa	PRODOP	79,200	6,600	6
Trimetoprim /Sulfametoxazol	APO-TRINELAX	80,000	5,366	8
Enalapril	APO-PYL	79,200	4,400	2
Nimesulida	APOUDE	70,000	2,000	4
Furosemida	FUROTER	80,000	8,000	2
Clortalidona	GI	80,000	36,366	4
Naproxeno	GI	80,000	8,466	6
Naproxeno Na	NASOCAN	80,000	9,524	3
Estavudina	APOSTAVINA	79,200	4,000	2
Metronidazol	METRICOM	80,000	10,667	4
Ambroxol	PROSPEC	60,000	30,000	3
Ibuprofeno	GOBROSAN	79,200	6,600	6
Isosorbida	INSUCAR	80,000	15,000	8
Aciclovir	APO-VIR	80,000	6,837	4
Zidovudina	ZIDOVIR	80,000	7,112	3



ANEXO 6

TECNICA DE MUESTREO CON HISOPO

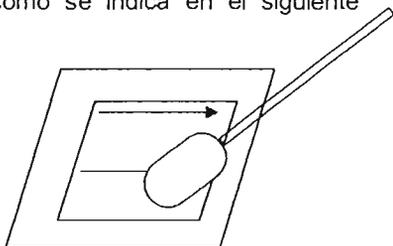
La técnica de hisopeo consiste básicamente en frotar un hisopo humedecido con disolvente sobre la superficie del equipo a muestrear.

Los hisopos utilizados para este fin deben tener la característica de estar fabricados con materiales inertes que no generen interferencias con nuestra medición, en nuestro caso los hisopos a utilizar además de ser fáciles de utilizar, deben tener una cantidad de carbono muy baja como los hisopos TEXWIPE (cantidad de carbono < 50 ppb).

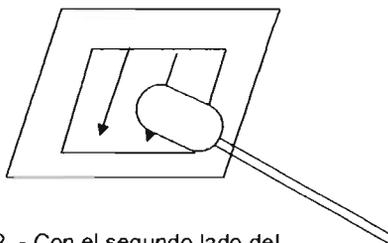
Para este método debe determinarse el porcentaje de recobro del método, el método de extracción y la efectividad del hisopo para recuperar residuos.

Procedimiento general

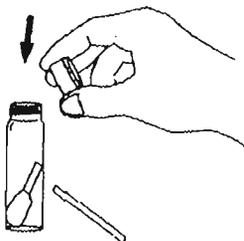
En un área aproximada de 25 cm² del equipo a muestrear, pasar el hisopo previamente humedecido con unas gotas de disolvente en tres direcciones como se indica en el siguiente diagrama



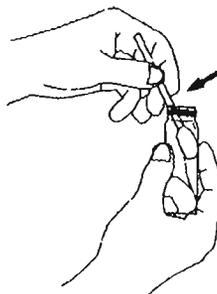
1. - Con el primer lado del hisopo de izquierda a derecha, presionando firmemente y sin regresar



2. - Con el segundo lado del hisopo (contracara), de arriba hacia abajo, sin regresar



4. - Tapar el vial, agitar y analizar en equipo TOC



3. - Ya terminado el muestreo apoyar el hisopo en el vial (que contiene 20 mL de disolvente), para cortar el mango del hisopo

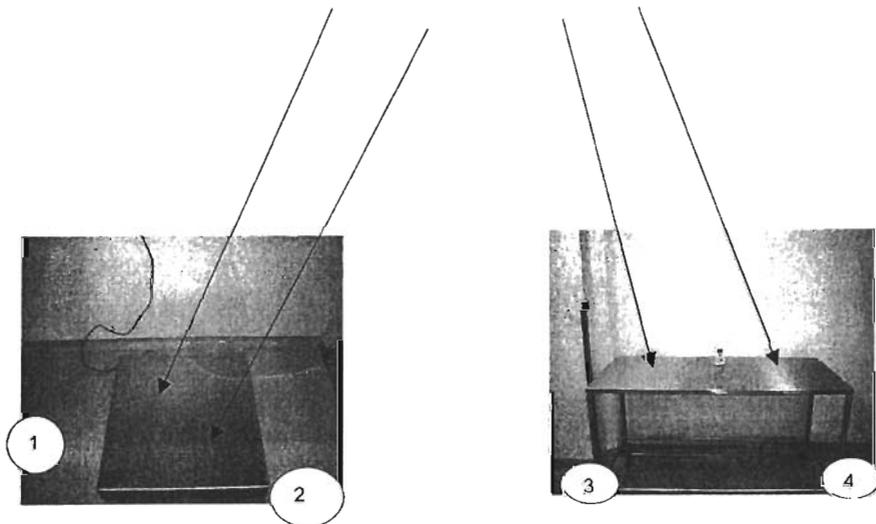


ANEXO 7

PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA BASCULA BAS-27

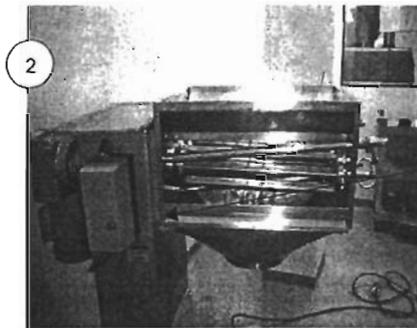
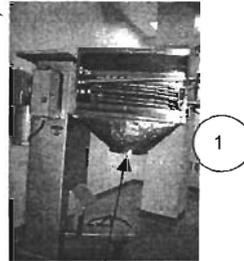


PUNTOS DE MUESTREO

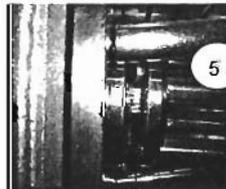
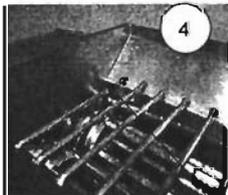
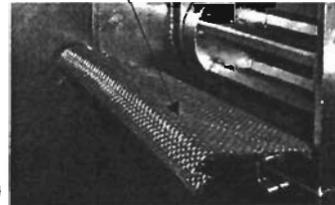




**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
TAMIZADOR TAM-02**



PUNTOS DE MUESTREO

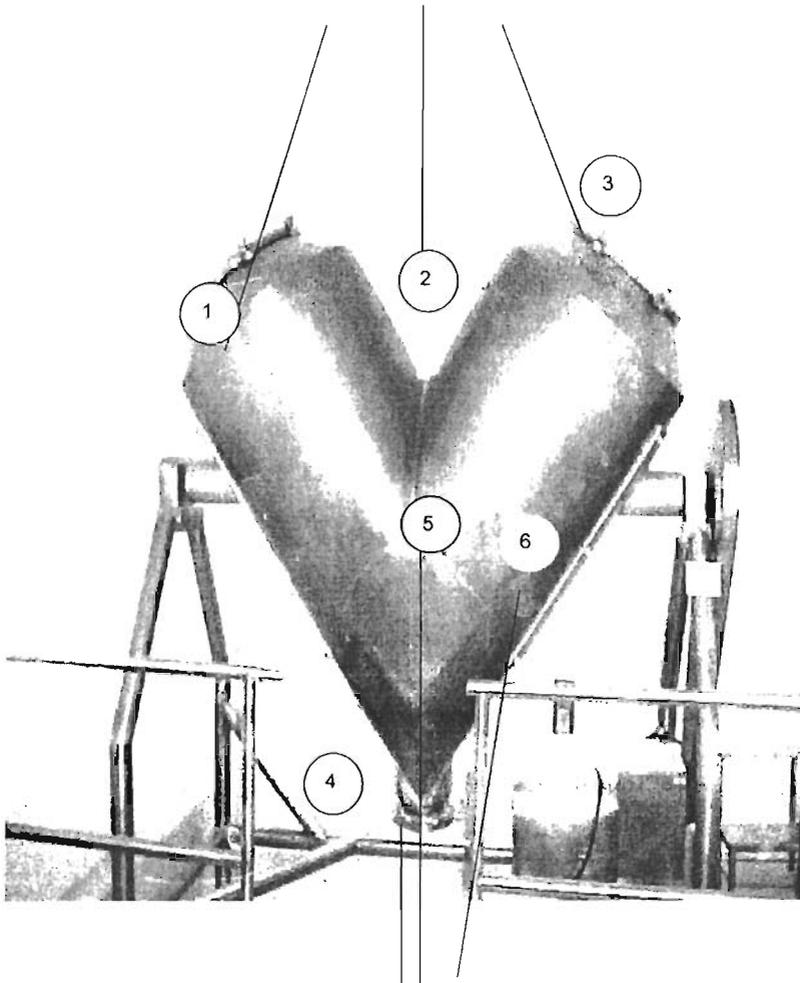


PUNTOS DE MUESTREO



**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
MEZCLADOR MEZ-01**

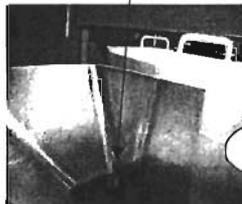
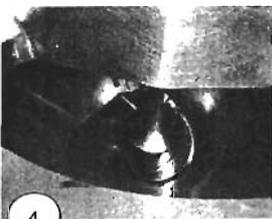
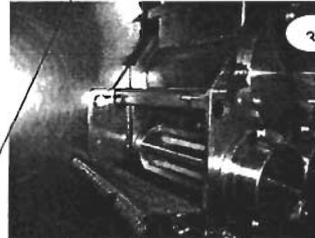
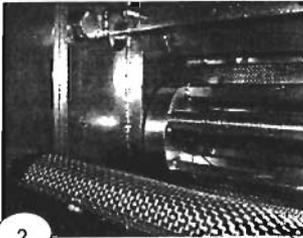
PUNTOS DE MUESTREO



PUNTOS DE MUESTREO



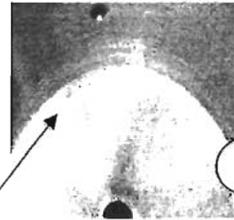
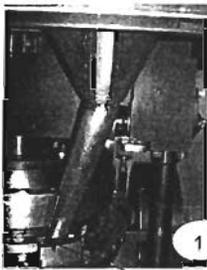
**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
COMPACTADOR COM-01**



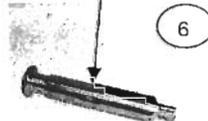
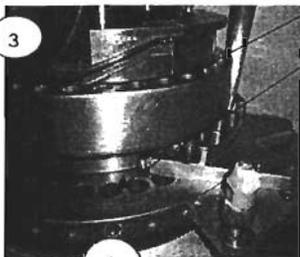
PUNTOS
DE
MUESTREO



**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
COMPACTADOR COM-01**

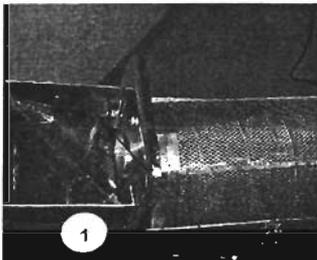


**PUNTOS
DE MUESTREO**





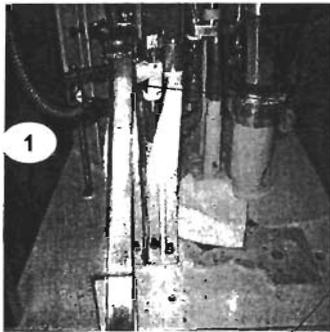
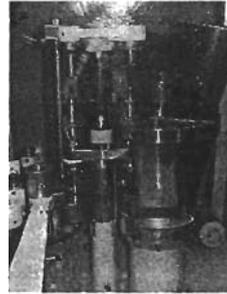
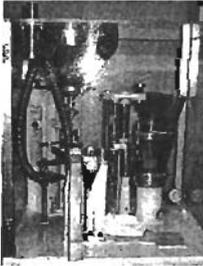
**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
DESEMPOLVADOR DES-02**



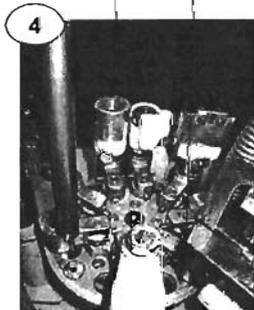
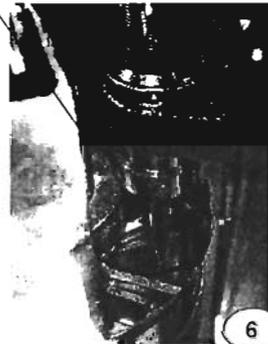
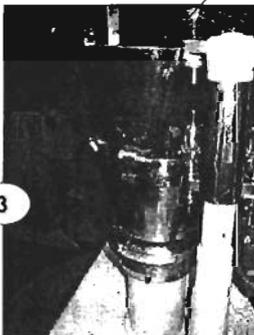
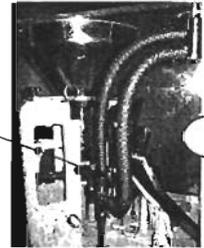
PUNTOS DE MUESTREO



**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
ENCAPSULADORA ZANAZI CAP-01**



**PUNTOS
DE MUESTREO**

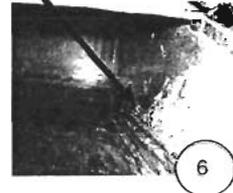
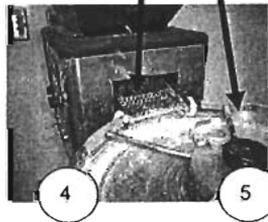
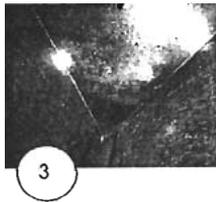
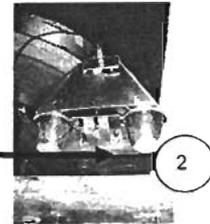




**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
CONTADORA VERSACOUNT VER-01**

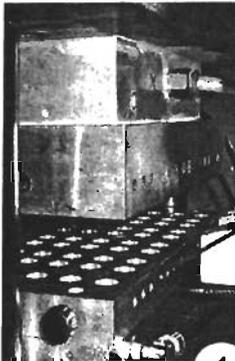
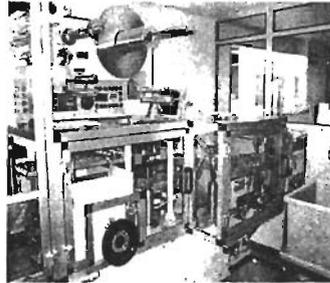
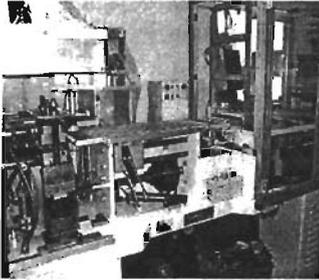


PUNTOS
DE
MUESTRA



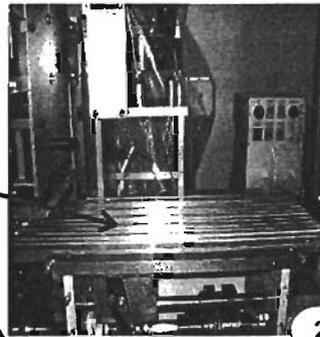


**PUNTOS DE MUESTREO DE EQUIPOS
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA
BLISTEADORA FAMAR BLI-01**



1

PUNTOS
DE MUESTREO

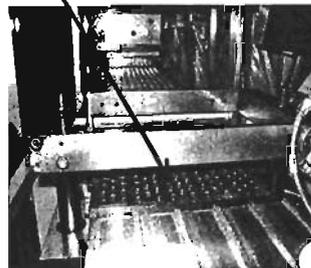


2



3

4



5



ANEXO 8

PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN (PNO's) DE LIMPIEZA

Lista de procedimientos de limpieza de los equipos que intervienen en la fabricación de Estavudina y Nimesulida

NOMBRE	CÓDIGO
PNO de limpieza de la Bascula electrónica BAS-27	PNOAMP-020
PNO de limpieza del Tamizador TAM-02	PNOFAB -035
PNO de limpieza del Mezclador en "V" MEZ-01	PNOFAB -024
PNO de limpieza de del Compactador COM-1	PNOFAB -025
PNO de limpieza de la Tableteadora TAB- 04	PNOFAB -038
PNO de limpieza para desempolvadores	PNOFAB -026
PNO de limpieza de la Encapsuladora Zanazi CAP-01	PNOFAB -004
PNO de limpieza de la máquina blisteadora BLI-01	PNOACO-003
PNO de limpieza de las dosificadoras Versaccount VER-01	PNOACO-016

Ejemplo de los Procedimientos Normalizado de Operación elaborados en Apotex, México.

PNOFAB-038 "Limpieza y sanitización de la máquina Tableteadora killian"

TÍTULO:

LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE LA MÁQUINA TABLETEADORA KILLIAN**1.0 OBJETIVO**

Proporcionar al personal los lineamientos necesarios a seguir para la correcta y segura limpieza y sanitización de la máquina Tableteadora Killian.

2.0 ALCANCE

Este procedimiento aplica al Proceso de Limpieza y Sanitización de la tableteadora Killian.

3.0 RESPONSABILIDADES

- **Responsable Sanitario**
Revisar y autorizar el siguiente procedimiento
- **Gerente de Aseguramiento de Calidad**
Revisar, autorizar y validar la efectividad del siguiente procedimiento
- **Gerencia de producción**
Revisar y autorizar el siguiente procedimiento
- **Supervisor de producción**
Difundir, capacitar y verificar que este procedimiento se aplique correctamente; además de proporcionar las herramientas y aditamentos necesarios para resolver cualquier desviación que se presente en el equipo y/o área.
- **Inspector de planta**
Realizar la inspección necesaria para la autorización de la limpieza
- **Operador de producción**
Es responsabilidad del operador de granulados cumplir con el siguiente procedimiento al 100 % e informar al supervisor o jefe inmediato sobre cualquier desviación.

4.0 GENERALIDADES

La Tableteadora Killian RTS 26 es una máquina de precisión de alta velocidad tipo rotatorio, de 26 estaciones utilizada en la compresión de polvos para la obtención de comprimidos. El arranque y paro de la máquina se realiza eléctricamente a través del tablero de control, así como también el funcionamiento del alimentador.

5.0 MATERIALES Y EQUIPO

- Agua purificada
- Detergente líquido MU-5
- Tela Espontex

PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN

CODIGO: PNOFAB-038

REVISIÓN: 0

PAG: 2 DE 5

TITULO:

LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE LA MÁQUINA TABLETEADORA KILLIAN

- Aspiradora
- Sanitizante

EQUIPO DE SEGURIDAD

- Uniforme limpio reglamentario
- Zapatos de seguridad
- Guantes de hule látex
- Goggles
- Mascarilla 3M para polvos y neblinas

6.0 CONDICIONES DE SEGURIDAD

Esta operación se debe realizar solo por personal capacitado con uniforme completo y equipo necesario de seguridad.

Se recomienda diferenciar los utensilios para la limpieza de los equipos con respecto a los utilizados en la limpieza de pisos, paredes, ventanas, etc.

Antes de iniciar la limpieza, verificar que el suministro eléctrico este interrumpido, es decir, que el equipo se encuentre desconectado.

En las áreas productivas, tomar las debidas precauciones en la limpieza de zonas de interruptores, tableros de control de mando y motor (cubriendo con plástico estas áreas)

7.0 DESARROLLO DE ACTIVIDADES

Responsable	Actividad	Descripción de actividad
Operador de producción	1.0	LIMPIEZA MAYOR Desmontaje
		Al inicio de la limpieza la máquina y el interruptor deberán estar apagados y/o desconectados.
	1.1.1	Quitar las puertas o guardas de protección. Quitar toda la presión de peso y dureza, para evitar choque entre los punzones.
	1.1.2	Desmontar la tolva, y retirar las cubiertas superiores e inferiores de ambos lados de la máquina.
	1.1.3	Descargar el restante del producto de la tolva a través de la zapata, quitando la placa de acero que se localiza abajo de la zapata para el vencimiento del polvo.
	1.1.4	Eliminar todo el exceso de polvos con la aspiradora, colocarlos en una bolsa de plástico y llevarlo al cuarto de residuos.

PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN

CODIGO: PNOFAB-038

REVISIÓN: 0

PAG. 3 DE 5

TÍTULO:

LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE LA MÁQUINA TABLETEADORA KILLIAN

Operador de producción	1.1.5	Desmontar el separador de tabletas, la rampa de caída de los comprimidos y colocarlos en el carro transportador.
	1.1.6	Desmontar la zapata de llenado, poniendo el selector en la posición automático (motor apagado), liberar el embrague de la zapata de llenado, levantar el almacén vacío, girar las 2 palancas hacia la derecha y retirar la zapata por delante y colocarlo en el carro transportador.
	1.1.7	Retirar el nivel de los punzones superiores, aflojando los tornillos que lo sujetan, colocarlo en el carro transportador. Llevar el carro al cuarto de lavado.
	1.2	Pre - lavado A todas las piezas se les eliminan los materiales residuales de gran tamaño, aspirando el polvo esparcido y adherido a los mismos, buscar que se elimine la mayor cantidad de polvo.
	1.3	Lavado Iniciar la limpieza de las piezas a fondo con un cepillo impregnado de la solución MU4 previamente preparada, restregar y enjuagar, en todas las partes internas y continuar con las superficies externas, hendiduras y partes inferiores.
	1.3.1	Enjuague inicial. Enjuagar con agua potable dos veces para eliminar la solución jabonosa. Hacer una revisión visual general de la limpieza, si el equipo se encuentra limpio, seguir con el punto 1.3.2, en caso de encontrar trazas (residuos) de producto, se repite a partir del punto 1.3.
	1.3.2	Aplicar el Sanitizante, previamente preparado, frotándolo con un lienzo limpio por todo el equipo y dejarlo actuar por un lapso de 10 minutos aproximadamente.
	1.4	Enjuague final. Aplicar agua deionizada - ozonada a las piezas.
	1.4.1	Desmontar los punzones superiores uno por uno, limpiarlos con lienzo que no desprenda pelusa, sumergirlos en alcohol etílico al 70% y secarlos, volver a sumergirlos en alcohol etílico al 70% y secarlos con un trapo que no suelte pelusa.
	1.4.2	Repetir la operación, sumergiéndolos en alcohol al 70 %, secarlos, lubricarlos y colocarlos en su estuche.
	1.4.3	Desmontar los punzones inferiores uno por uno, limpiarlos con trapo, sumergirlos en alcohol etílico y secarlos con un trapo que no suelte pelusa. Repetir sumergirlos en alcohol etílico al 70%, secarlos, lubricarlos y colocarlos en su estuche.

TÍTULO:

LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE LA MÁQUINA TABLETEADORA KILLIAN

Operador de producción	1.4.5	Aflojar los tornillos de matriz y desmontar las matrices una por una, limpiarlas con un lienzo que no suelte pelusa, y alcohol etílico. Repetir limpieza de matrices y colocarlas en su estuche.
	1.4.6	Limpiar toda la máquina de arriba hacia abajo con un lienzo que no desprenda pelusa y alcohol etílico al 70 %. Repetir una vez más la operación.
	1.4.7	Realizar la limpieza del Área de Comprimidos, según PNO correspondiente.
Supervisor de Producción	1.4.8	Llenar la bitácora y etiqueta de Limpieza, con los datos requeridos y solicitar el Visto Bueno del Supervisor de Producción y del Inspector de la planta.
Inspector de Planta	1.4.9	Dar aviso al supervisor para la verificación de la limpieza y asiente el Visto Bueno en las etiquetas y bitácoras. Si la limpieza es correcta, Firmar la bitácora y etiqueta como Visto Bueno, en caso contrario indicar al operador que tiene que volver a efectuar la limpieza a partir del punto 1.3.
	2.0	LIMPIEZA MENOR
	2.1	Verificar que el equipo se encuentre apagado y desconectado.
	2.1.1	Limpiar las guardas de protección con un lienzo húmedo que no suelte pelusa.
	2.1.2	Eliminar los materiales residuales de gran tamaño y colocarlos en bolsa de polietileno para ser enviados al área de residuos, aspirar completamente el polvo adherido al equipo y recoger el polvo caído al piso
	2.1.3	Limpiar la superficie de la tableteadora con una lienzo que no suelte pelusa y /o aspiradora quitando el exceso de polvo.
	2.1.4	Verificar que el polvo que se encuentra en el equipo solo sea el que queda adherido a las paredes del equipo.
Supervisor de Producción	2.1.5	Llenar la bitácora y etiqueta de Limpieza, con los datos requeridos y solicitar el Visto Bueno del Supervisor de Producción y del Inspector de la planta.
Inspector de Planta	2.1.6	Si la limpieza es correcta, Firmar la bitácora y etiqueta como Visto Bueno, en caso contrario indicar al operador que tiene que volver a efectuar la limpieza a partir del punto 2.1

TITULO:

LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE LA MÁQUINA TABLEADORA KILLIAN

Operador de
 producción

3.0 LIMPIEZA EXHAUSTIVA

- 3.1 Realizar la limpieza mayor dos veces, o las que sean necesarias para garantizar la limpieza total del equipo, este tipo de limpieza se realiza cuando se ha tenido un paro prolongado o se le a dado mantenimiento al equipo y/o áreas.
- 3.2 Revisar y autorizar la limpieza del equipo y los accesorios.
- 3.3 Verificar y liberar el equipo para su uso

8.0 REFERENCIAS

Procedimientos para la elaboración de procedimientos normalizados de operación, código PNOVAL-001.

9.0 ANEXOS

N/A

10.0 GLOSARIO

Limpieza menor:

Cuando se fabriquen de manera continua hasta 5 lotes de la misma o diferente concentración, siempre y cuando los lotes realizados hayan sido fabricados de mayor a menor concentración. Además no tengan distintos colorantes, o alguno de los excipientes difiera completamente con la otra formulación.

Limpieza mayor:

Cuando se fabriquen lotes de diferente producto
 Después de un paro de más de 72 horas no se puede utilizar el equipo, si no se realiza antes una limpieza mayor.

Limpieza exhaustiva:

Después de darte mantenimiento al equipo y/o remodelación del área



ANEXO 9

CALCULO DE LIMITES DE ACEPTACIÓN

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

CALCULO DE LÍMITES DE ACEPTACIÓN. CRITERIO 0.1%

Principio activo a evaluar: NIMESULIDA

Producto	Factor de recuperación (R)	Dosis máxima del producto 2 (Uds/a)	Dosis terapéutica del producto 1	Tamaño de lote Prod. 2 (Uds/a)
1) Nimesulida	1.0093		200	
2) Naproxeno sodio		5		38502

Superficies de equipos compartidos

Equipo	Código	Superficie cm ²	Producto 1	Producto 2
Bascula	BAS-35	20180,54	X	X
Tamizador	TAM-02	16038,938	X	X
Mezclador	MEZ-01	66827,298	X	X
Compactador	COM-01	25989,795	X	X
Tableteadora	TAB-004	20875,663	X	
Desempolvador	02	5110,894	X	
Emblisadora	BLI-01		X	

Área total compartida = 129036,5713

Equipos en común X

Criterio de aceptación

Muestreo: raspado de superficies con hisopo

Agrupación por equipo

0.1% Dosis terap. del producto A	Área muestreada por hisopo cm ²	Volumen de desorción ml	Cantidad de carbono de la molécula
0,2	25	20	0,5060

$$\text{mcgCarbono/hisopo} = \text{mcg/hisopo} \times \text{Cantidad de Carbon}$$

$$0.1\% = \frac{0.1\% \times B \times R \times S \times 1000}{M \times A}$$

$$\text{ppmCarbono} = \frac{\text{mcgCarbono/hisopo}}{\text{Vol. Disolvente}}$$

Límite de 0.1% = Límite máximo permisible de residuo en mcg/hisopo

0.1% = 0,1% de la dosis terapéutica del producto 1 (mg)

M = Dosis diaria máxima del producto 2 (unidades/día)

B = Tamaño de lote del producto 2 (unidades/día)

A = Área superficial compartida del equipo 1 y 2 (cm²)

R = Factor de recuperación del producto 1 (determinado por estudios de recobro)

S = Área de muestreo con hisopo (25 cm²/hisopo)

1000 = Factor de conversión de mg a mcg

PM Peso molecular = 308,3

No. Carbonos = 13

PM Carbono = 12

$$\text{Cálculo} = \frac{(\text{PM Carbono} \times \text{No. C}) \times \text{PM Nimesulida}}{\text{C de la molécula}} = 0,5060$$

Resultados

Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	301,154
Criterio de aceptación (mcgC/hisopo)	152,384
Criterio en ppm/muestra	7,62



VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

CALCULO DE LÍMITES DE ACEPTACIÓN. CRITERIO DE DL₅₀

Principio activo a evaluar: NIMESULIDA

Producto	Factor de Recuperación (R)	Dosis máxima del producto 2 (U/día)	DL50 del producto 1 (mg/Kg)	Tamaño de lote Prod. 2 (U/día)
1) Nimesulida	1,0093		324	
2) Naproxeno Sódico		3		190476

Superficies de equipos compartidos

Equipo	Código	Superficie cm ²	Producto 1	Producto 2
Balanza	BAS-05	20180,54	X	X
Tamizador	TAM-02	16038,938	X	X
Mezclador	MEZ-01	66827,298	X	X
Compactador	COM-01	25969,795	X	X
Tableteadora	TAB-004	20875,663	X	
Desempolvador	02	5110,894	X	
Blisteadora	BLI-01		X	

Área total compartida = 129036,5713

Equipos en común X

criterio de aceptación

CONDICIONES:

Muestreo: raspado de superficies con hisopo

Agrupación por equipo

DL50*70/2000	Área muestreada con hisopo (cm ²)	Volumen de disolvente (mL)	Cantidad de carbono de la molécula
11,34	25	20	0,5060

11,34
140,792503
71,2410978

mcgCarbono/hisopo = mcg/hisopo x Cantidad de Carbono

$$DL_{50} = \frac{DL_{50}}{2000} \times \frac{C}{F} \times \frac{B}{M} \times R \times \frac{S}{A} \times 1000$$

$$ppmCarbono = \frac{mcgCarbono/hisopo}{Vol. Disolvente}$$

LD₅₀ = Valor de toxicidad del producto 1 (mg/Kg)

M = Dosis diaria máxima del producto 2 (unidades/día)

C = 70 Kilogramos de peso corporal de un adulto (Kg)

F = Factor de seguridad (1000)

B = Tamaño de lote del producto 2 (unidades/día)

A = Área superficial de equipos, que se comparte del producto 1 y 2 en cm²

R = Factor de recuperación del producto 1 (determinado por estudio de recobro)

S = Área muestreada con hisopo (25 cm² / hisopo)

1000 = Factor de conversión de mg a mcg

PM Peso molecular = 308,3

No. Carbones = 13

PM Carbono = 12

Cálculo = (PM Carbono/No. C)/PM Nimesulida
cantidad de Carbono de la molécula 0,5060

Resultados

Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	140,793
Criterio de aceptación (mcgC/hisopo)	71,241
Criterio en ppm/muestra	3,56



VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

CALCULO DE LÍMITES DE ACEPTACIÓN. CRITERIO DE 10 ppm

Principio activo a evaluar: NIMESULIDA

Producto	Factor de recuperación (R)	Tamaño de lote del Producto # 2 (Kg)
1) Nimesulida	1,0093	
2) Naproxeno Sodico		80

Superficies de equipos compartidos

Equipo	Código	Superficie cm ²	Producto 1	Producto 2
Bascula	BAS-36	20180,54	X	X
Tamizador	TAM-02	16038,938	X	X
Mezclador	MEZ-01	66827,298	X	X
Compactador	COM-01	25689,7952	X	X
Tableteadora	TAB-004	20875,6634	X	
Desempolvador	02	5110,8944	X	
Blisteadora	BLI-01		X	

Área Total compartida = 129036,571 cm²

Equipos en común X

Criterio de aceptación

CONDICIONES

Muestreo: por raspado de superficies con hisopo

Agrupación por equipo

10 mg del Prod. 1 / Kg del prod. 2	Área muestreada con hisopo (cm ²)	Volumen de disolvente (ml)	Cantidad de carbono de la molécula
10	25	20	0,5060

$mcgCarbono/hisopo = mcg/hisopo \times Cantidad\ de\ Carbono$

$$10ppm = 10 ppm \times \frac{B}{A} \times S \times R \times 1000$$

$$ppmCarbono = \frac{mcgCarbono/hisopo}{Vol. Disolvente}$$

10 ppm = 10 mg de producto 1 / kg del producto 2 (mg/kg)

B = Tamaño de lote del producto 2 (Kg)

A = Área superficial compartida del producto 1 y 2 (cm²)

R = Recuperación del producto 1 (determinado por estudio de % de recobro)

S = Área de muestreo con hisopo (25 cm² / hisopo)

1000 = Factor de conversión de mg a mcg

PM Peso molecular = 308,3

No. Carbonos = 13

PM Carbono = 12

Resultados

Cálculo = (PM Carbono * No. C) / PM Nimesulida
cantidad de Carbono en la molécula 0,5060

Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	156,436
Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	79,157
Criterio en ppm/muestra	3,96



Elección del límite de aceptación:

Para seleccionar el límite de aceptación de trazas de principios activos, se deben considerar los tres criterios establecidos y de estos escoger el valor más bajo. De acuerdo con los cálculos realizados por cada uno de los criterios de aceptación, nuestros límites de trazas de Nimesulida son:

Criterio de aceptación	ppm de Carbono/hisopo
10 ppm	3.96
DL ₅₀	3.56
0.1 %	7.62

El valor más bajo es el obtenido al utilizar el criterio de DL₅₀, por lo que el límite analítico de aceptación de residuos de Nimesulida será de 3.56 ppm de Carbono/ hisopo



VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

CALCULO DE LÍMITES DE ACEPTACIÓN. CRITERIO 0.1%

Principio activo a evaluar: Estavudina

Producto	Factor de recuperación (R)	Dosis máxima del producto 2 (U/día)	Dosis terapéutica del producto 1	Tamaño de lote Prod. 2 (U/día)
1) Estavudina 2) Naproxeno sódico	0,9658	2	80	38501

Superficies de equipos compartidos

Equipo	Código	Superficie cm ²	Producto 1	Producto 2
Balanza	BAS-35	20180,54	X	X
Tarificador	TAM-02	16038,938	X	X
Mezclador	MEZ-01	66827,2981	X	X
Encapsuladora	CAP-01		X	
Dosificadora	VER-01	35662,53	X	X

Area total compartida =

138709,3061

Equipos en común



Criterio de aceptación

Muestreo: raspado de superficies con hisopo

Agrupación por equipo

0.1% Dosis terap del producto A	Area muestreada por hisopo cm ²	Volumen de desorción mL	Cantidad de carbono de la molécula
0,08	25	20	0,5352

$$\text{mcgCarbono/hisopo} = \text{mcg/hisopo} \times \text{Cantidad de Carbono}$$

$$0.1\% = \frac{0.1\% \times B \times R \times S \times 1000}{M \times A}$$

$$\text{ppmCarbono} = \frac{\text{mcgCarbono/hisopo}}{\text{Vol. Disolvente}}$$

Vol. Disolvente

Límite de 0.1% = Límite máximo permisible de residuo en mcg/hisopo

0.1% = 0,1% de la dosis terapéutica del producto 1 (mg)

M = Dosis diaria máxima del producto 2 (unidades/día)

B = Tamaño de lote del producto 2 (unidades/día)

A = Área superficial compartida del equipo 1 y 2 (cm²)

R = Factor de recuperación del producto 1 (determinado por estudios de recobro)

S = Área de muestreo con hisopo (25 cm²/hisopo)

1000 = Factor de conversión de mg a mcg

$$\text{PM Peso molecular} = 224,22$$

$$\text{No. Carbonos} = 10$$

$$\text{PM Carbono} = 12$$

$$\text{Cálculo} = (\text{PM Carbono} \times \text{No. C}) / \text{PM Estavudina de la molécula} = 0,5352$$

Resultados

Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	268,073
Criterio de aceptación (mcgC/hisopo)	143,470
Criterio en ppm/muestra	7,17



VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

CÁLCULO DE LÍMITES DE ACEPTACIÓN. CRITERIO DE DL₅₀

Principio activo a evaluar: ESTAVUDINA

Producto	Factor de Recuperación (R)	Dosis máxima del producto 2 (Unidades)	DL ₅₀ del producto 1 (mg/Kg)	Tamaño de Lote Prod. 2 (Unidades)
1) Estavudina	0,9658		822	
2) Naproxeno Sodico		3		100476

Superficies de equipos compartidos

Equipo	Código	Superficie cm ²	Producto 1	Producto 2
Bascula	BAS-36	20180,54	X	X
Tamizador	TAM-02	16038,938	X	X
Mezclador	MEZ-01	66827,29822	X	X
Encapsuladora	CAP-01		X	
Dosificadora	VER-01	35662,53	X	X

Área total compartida = 138709,306

Equipos en común

X

criterio de aceptación

CONDICIONES

Muestreo: raspado de superficies con hisopo

Agrupación por equipo

DL ₅₀ 70/2000	Área muestreada con hisopo (cm ²)	Volumen de disolvente (mL)	Cantidad de Carbono de la molécula
28,77	25	20	0,5362

mcgCarbono/hisopo = mcg/hisopo x Cantidad de Carbon

$$DL_{50} = \frac{DL_{50}}{2000} \times \frac{C}{F} \times \frac{B}{M} \times R \times \frac{S}{A} \times 1000$$

$$ppmCarbono = \frac{mcgCarbono/hisopo}{Vol Disolvente}$$

LD₅₀ = Valor de toxicidad del producto 1 (mg/Kg)

M = Dosis diaria máxima del producto 2 (unidades)

C = 70 Kilogramos de peso corporal de un adulto (Kg)

F = Factor de seguridad (1000)

B = Tamaño de lote del producto 2 (unidades)

A = Área superficial de equipos, que se comparte del producto 1 y 2 en cm²

R = Factor de recuperación del producto 1 (determinado por estudio de recobro)

S = Área muestreada con hisopo (25 cm² / hisopo)

1000 = Factor de conversión de mg a mcg

PM Peso molecular = 224,22

No. Carbonos = 10

PM Carbono = 12

Cálculo = (PM Carbono * No. C) / PM Estavudina
cantidad de Carbono de la molécula = 0,5352

Resultados

Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	317,966
Criterio de aceptación (mcgC/hisopo)	170,172
Criterio en ppm/muestra	8,51



VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA

CALCULO DE LÍMITES DE ACEPTACIÓN. CRITERIO DE 10 ppm

Principio activo a evaluar: ESTAVUDINA

Producto	Factor de recuperación (R)	Tamaño de lote del Producto # 2 (Kg)
1) Estavudina	0,9658	
2) Naproxeno Sodico		80

Superficies de equipos compartidos

Equipo	Código	Superficie cm ²	Producto 1	Producto 2
Balanza	BAS-05	20180,54	X	X
Tamizador	TAM-02	16038,938	X	X
Mezclador	MEZ-01	66827,298	X	X
Encapsuladora	CAP-01		X	
Dosificadora	VER-01	35662,53	X	X

Area Total compartida = 138709,306 cm²

Equipos en común X

Criterio de aceptación

CONDICIONES

Muestreo: por raspado de superficies con hisopo

Agrupación por equipo

10 mg del Prod. 1 / Kg del prod. 2	Área muestreada con hisopo (cm ²)	Volumen de disolvente (mL)	Cantidad de carbono de la molécula
10	25	20	0,5352

mcgCarbono/hisopo = mcg/hisopo x Cantidad de Carbon

$$10\text{ppm} = \frac{10 \text{ ppm} \times B}{A} \times S \times R \times 1000$$

$$\text{ppmCarbono} = \frac{\text{mcgCarbono/hisopo}}{\text{Vol. Disolvente}}$$

10 ppm = 10 mg de producto 1 /kg del producto 2 (mg/kg)

B = Tamaño de lote del producto 2 (Kg)

A = Área superficial compartida del producto 1 y 2 (cm²)

R = Recuperación del producto1 (determinado por estudio de % de recobro)

S = Área de muestreo con hisopo (25 cm² / hisopo)

1000 = Factor de conversión de mg a mcg

PM Peso molecular = 224,22

No. Carbonos = 10

PM Carbono = 12

Resultados

Cálculo = (PM Carbono/No. C)/PM Estavudina
cantidad de Carbono en la molécula = 0,5352

Criterio de aceptación (mcg/hisopo)	139,256
Criterio de aceptación (mcgC/hisopo)	74,528
Criterio en ppm/muestra	3,73



Elección del límite de aceptación:

Para seleccionar el límite de aceptación de trazas de principios activos, se deben considerar los tres criterios establecidos y de estos escoger el valor más bajo.

De acuerdo con los cálculos realizados por cada uno de los criterios de aceptación, nuestros límites de trazas de Estavudina son:

Criterio de aceptación	ppm de Carbono/hisopo
10 ppm	3.73
DL ₅₀	8.51
0.1 %	7.17

El valor más bajo es el obtenido al utilizar el criterio de 10 ppm por lo que el límite analítico de aceptación para residuos de Estavudina, será de 3.73 ppm de Carbono/ hisopo



ANEXO 10

Propiedades fisicoquímicas y Toxicidad de sanitizantes utilizados en Apotex, México

Nombre	Principales componentes	Características	DL ₅₀ Oral/rata
BUCKEYE SUPERGARD	Orto-fenilfenol Orto-bencilo-para-clorofenol	Solubilidad: completa en agua pH(Conc.)= 13 ± 0.2 pH(diluido 1.128)= 10.0 ± 0.2	3526 mg/Kg
GV GERM	Bromo-Cloro-dimetil-hidantoina	Solubilidad: completa en agua pH(Conc.)= N.E pH(diluido 0.1%)= 3.5 ± 0.2	1390 mg/Kg
BUCKEYE SANI-Q	Cloruro de n-alquil dimetilbencil amonio	Solubilidad: completa en agua pH(Conc.)= 7.0 ± 0.2 pH(diluido 1.128)= 7.0 ± 0.2	937 mg/Kg

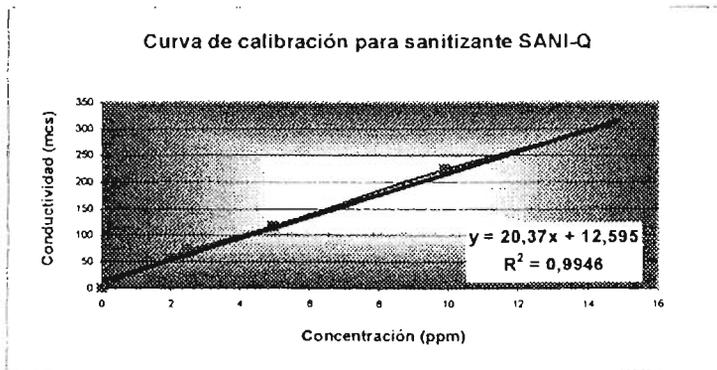


ANEXO 11

Curvas de calibración para Sanitizantes

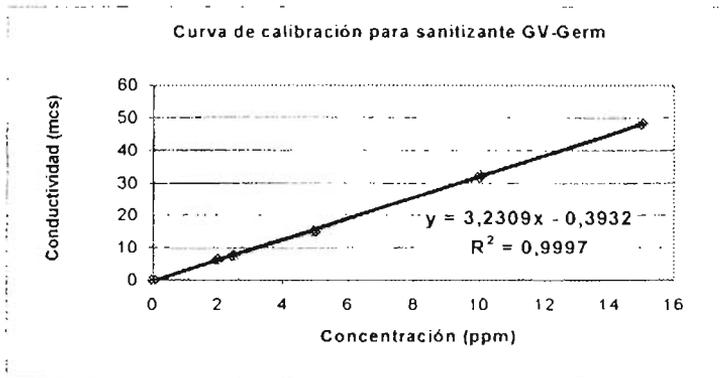
Sanitizante SANI-Q

Concentración de Sanitizante (ppm)	Conductividad de la muestra (mcs)	Conductividad del Blanco	Conductividad de Muestra - Blanco
0	1.1	1.1	0
2.0	56.9	1.1	55.8
2.5	70.4	1.1	69.3
5.0	117.5	1.1	116.4
9.9	224	1.1	222.9
14.9	308	1.1	306.9



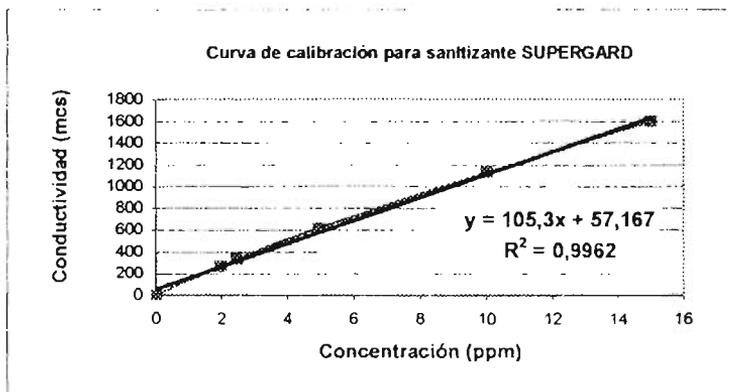
Sanitizante GEV-GERM

Concentración de Sanitizante (ppm)	Conductividad de la muestra (mcs)	Conductividad del Blanco	Conductividad de Muestra - Blanco
0	1.2	1.2	0
2.0	7.3	1.2	6.1
2.5	8.6	1.2	7.4
5.0	16.3	1.2	15.1
10.0	33.2	1.2	32
15.0	49.4	1.2	48.2



Sanitizante SUPER - GAR

Concentración de Sanitizante (ppm)	Conductividad de la muestra (mcs)	Conductividad del Blanco	Conductividad de Muestra - Blanco
0	1.7	1.7	0
2.0	269	1.7	267.3
2.5	339	1.7	337.3
5.0	618	1.7	616.3
9.9	1135	1.7	1133.3
14.9	1603	1.7	1601.3





ANEXO 12

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

**TÍTULO:
VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA**

1.0 OBJETIVO

Documentar y verificar que los procedimientos de limpieza de equipos que hayan tenido contacto con Nimesulida, sean capaces de reducir los niveles de contaminación del principio activo y sanitizantes a niveles aceptables, asegurando la calidad del producto evitando la contaminación cruzada en la fabricación de otros productos subsecuentes.

2.0 ALCANCE

A los procedimientos de limpieza que se apliquen a equipos que hayan tenido contacto con Nimesulida.

3.0 RESPONSABILIDADES

Gerente Producción

Proporcionar los elementos necesarios para llevar a acabo este protocolo.

Gerente de Aseguramiento de Calidad

Revisar y autorizar el reporte de validación y garantizar la aplicación de este.

Jefe de Aseguramiento de Calidad

Coordinar las pruebas de validación con el personal y departamentos involucrados en la limpieza.

Dar seguimiento al plan de muestreos.

Supervisor General de Producción.

Proporcionar el área y equipo necesario para llevar a cabo este protocolo.

Revisar que sus PNO de limpieza estén actualizados.

Analista de Validación

Elaborar la técnica de validación específica

Ejecutar y coordinar las pruebas establecidas en la técnica de validación

Interpretar y manejar los resultados obtenidos de las pruebas de validación analíticas

Emitir un reporte final de validación.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TÍTULO:

**VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA**

4.0 GENERALIDADES

El objetivo de la validación de limpieza es verificar la eficacia del procedimiento de limpieza para el retiro de los residuos de principio activo, productos de la degradación, excipientes

y/o de los agentes de limpieza y sanitización, para poder reducir la supervisión analítica a un mínimo en la fase rutinaria. Además de asegurar que no exista ningún riesgo asociado a contaminación cruzada por ingredientes activos

El propósito de los medicamentos es promover buena salud; sin embargo, cuando los compuestos residuales permanecen en el proceso de fabricación, el potencial para los efectos secundarios de niveles tóxicos de contaminantes aumenta. Una buena validación del proceso de limpieza documenta en qué puntos fallará el procedimiento de limpieza cuando los parámetros se reducen al peor panorama. La prueba de laboratorio típica incluye el desarrollo y la puesta en práctica de los métodos analíticos.

Los métodos analíticos deben detectar residuos y los contaminantes deben ser específicos para la sustancia o la clase de las sustancias que se probarán y que se validarán antes de que se realice el estudio de la validación de la limpieza.

La especificidad y la sensibilidad de los métodos analíticos deben ser determinadas. Si los niveles de contaminación o de los residuos no se detectan, no significa que no hay contaminante residual presente después de limpiar, significa solamente que los niveles del contaminante mayores que la sensibilidad o el límite de detección del método analítico no están presentes en la muestra.

El método analítico y el porcentaje de recuperación de los contaminantes se deben desafiar conjuntamente con el método(s) del muestreo usado. Éste debe demostrar que los contaminantes pueden ser recuperados de la superficie del equipo y demostrar el nivel y la consistencia de la recuperación.

La validación de limpieza se realizará una vez concluida la limpieza efectuada en maquinas y equipos que hayan tenido contacto con el producto y se validará como mínimo en 3 procesos de limpieza.

El programa de validación de limpieza se definió seleccionando él "peor caso" tomando como base los siguientes parámetros:

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TÍTULO:

**VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA**

Principio activo	Dificultad para limpiar	Solubilidad en agua	toxicidad	Dosis terapéutica	Limite de detección visual
Nimesulida	Difícil	Casi insoluble	324 mg/Kg	200 mg	Limite alto

Los procedimientos de limpieza que se van a evaluar en este protocolo son:

PNO de limpieza de la Bascula electrónica BAS-27	PNOAMP-020
PNO de limpieza del Tamizador TAM-02	PNOFAB-035
PNO de limpieza del Mezclador en "V" MEZ-01	PNOFAB-024
PNO de limpieza del Compactador COM-01	PNOFSB-025
PNO de limpieza de la Tableteadora TAB- 04	PNOFAB-038
PNO de limpieza para desempolvadores	PNOFAB-026
PNO de limpieza de la blisteadora BLI-001	PNOACO-003

Consideraciones

A continuación se muestra una relación de equipos que participan en la fabricación de Nimesulida.

Equipo	Código	Área	Localización	Código	Producto "Peor caso"
Bascula	BAS-27	Almacén	Almacén de MP	ALM-03	APOLIDE
Tamizador	TAM-05	Granulados	Mezclado seco lotes chicos	SOL-08	APOLIDE
Compactador	COM-01	Granulados	Compactado	SOL-03	APOLIDE
Mezclador	MEZ-01	Granulados	Mezclado seco lotes chicos	SOL-08	APOLIDE
Tableteadora	TAB-04	Granulados	Tableteado	SOL-13	APOLIDE
Desempolvador	01	Granulados	Tableteado	SOL-13	APOLIDE
Blisteadora	BLI-01	Sólidos	Envasado	SOL-19	APOLIDE

El Producto "A" es el residuo a evaluar que en este caso es la Nimesulida

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TÍTULO:

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA

Producto "B", es el producto subsecuente a fabricar, debe ser el lote de tamaño más pequeño.

El producto "B" es Naproxeno.

La condición para la elección del producto "B" se fundamenta en que un posible residuo del producto a limpiar "A" se concentrara mas en un lote pequeño que en un lote grande.

Si la frecuencia de fabricación del producto de menor tamaño es igual o menor a 10 lotes anuales entonces se elige el producto que le precede al tamaño de lote.

Plan de muestreo.

- Trazas de principio activo
El muestreo se realiza por raspado en superficie con hisopo. Ver Anexo 6
- Análisis Microbiológico
 - o El muestreo se realiza por raspado en superficie con hisopo. Ver Anexo 6
- Trazas de Sanitizante
Se utiliza el muestreo por agua de enjuague final, el cual consiste en tomar aproximadamente un litro de agua del ultimo enjuague realizado durante la limpieza del equipo.

Puntos de muestreo

La superficie a muestrear será de 5 cm x 5 cm, y el número de puntos de muestreo dependerá de la superficie total del equipo y se pondrá mayor interés en los sitios de difícil acceso para su limpieza. Ver anexo 7

Recobro

Para determinar la capacidad del procedimiento de muestreo con la finalidad de detectar residuos de principio activo, se realiza el análisis de recobro en placa de acero inoxidable de 25 cm², y este resultado se utiliza como factor de corrección para determinar la cantidad de principio activo en el equipo.

Métodos Analíticos

El agua de enjuague final se analiza por conductividad

Para el análisis de trazas de principios activos se utiliza el método de Carbono Orgánico Total (TOC) Validado.

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TÍTULO:

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA

Criterios de Aceptación.

- *Para residuo de activo.*
No más de 3.56 ppm de Carbono. El límite de aceptación se calculara de acuerdo al Anexo 8
- Para Sanitizante
Agua de enjuague final

Ensayo	Especificación
pH	5.0 – 7.0
Conductividad	1.3 mcs/cm ² (25° C)

- *Para control microbiológico*
Ausencia de Microorganismos objetables (S. aureus, Pseudomona sp y E. coli).
ausencia de Hongos y Levaduras
- Recobro

Superficie: Acero inoxidable

Principio Activo: Nimesulida

Recobro: > 80%

5.0 CONDICIONES DE SEGURIDAD

Utilizar el equipo de seguridad personal adecuado

6.0 MATERIALES, INSTRUMENTOS Y EQUIPOS

6.1 INSTRUMENTOS Y EQUIPOS

6.1.1 Analizador de Carbono Orgánico Total

Modelo: TOC-V CPH

Marca: SHIMADZU

Código: TOC-01

No. Serie: TOCV-10401-000561

6.1.2 Potenciómetro

Marca: Conductronic

Código: CON-01

No. Serie: 276

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TITULO:

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA

6.2 REACTIVOS

6.2.1 Disolventes

6.2.1.1 Agua con bajo contenido de carbono

6.2.1.2 Ácido Nítrico 6N

6.2.1.3 Distribuidor: J. T. Baker

6.2.1.4 Lote: Y52C20

6.2.1.5 Hidróxido de Sodio 0.01 N

6.2.2 Material

6.2.2.1 Placas de acero inoxidable 314

6.2.2.2 Hisopos

6.2.2.3 Modelo: Large Alpha Swab TX714A

6.2.2.4 Marca: TEXWIPE

6.2.2.5 Lote: 0911271

6.2.2.6 Viales para TOC de 20 mL

7.0 DESARROLLO DE ACTIVIDADES

Responsable	Actividad	Descripción de actividades
Q Validación	1	Realizar los cálculos correspondientes para establecer los límites de aceptación de trazas de Nimesulida en las superficies del equipo del proceso.
Operador	2	Indicar los puntos de muestreo (Anexo 7)
	3	Lavar los equipos como lo establece el PNO de limpieza correspondiente bajo supervisión del responsable de área y del analista de Validación. Tomar muestra de agua de enjuague final.
Q. Validación	4	Después de concluida la limpieza, realizar una Inspección visual para confirmar que no existan residuos visibles y reportar las observaciones
	5	Realizar el muestreo para el análisis microbiológico en superficies de equipos. Una vez concluido el análisis microbiológico efectuar el muestreo fisicoquímico con hisopo como se indica en el Anexo 6

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TITULO:

**VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA**

- 6 Enviar las muestras recolectadas al laboratorio para su análisis, anexando la solicitud de análisis para Validación.
- Q. Validación 7 Realizar los análisis de cada una de las muestras recolectadas de acuerdo a la técnica de análisis correspondiente al tipo de muestra.
Enviar los resultados al área de Validación.
- 8 Recabar los resultados
Comparar con el límite de aceptación correspondiente.
Emitir resultados y realizar Reporte de Validación de limpieza.
- Q. Validación 9 Conformar la carpeta de Validación de limpieza.
Reporte de Resultados
- El reporte de validación es revisado y aprobado por los representantes de las áreas de validación, aseguramiento de calidad y producción.
- 10 **Documentación**
- Las actividades de la validación del proceso de limpiezas, deberán estar sustentadas en un expediente único de forma ordenada y disponible, bajo la responsabilidad de aseguramiento de calidad.
El expediente del proceso de limpieza contendrá los siguientes documentos:
- Carpeta identificada con el título y código de la validación
 - Hoja de autorización
 - Resumen de registro de cada uno de los parámetros determinados en el estudio de la validación con conclusión general.
 - Protocolo específico del la validación de proceso con su tabla de contenido
 - Reporte de resultados con sus hojas de calculo que sustentan los resultados.
Deberán incluirse las Gráficas generadas por el instrumento

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TÍTULO:

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA

11 Revalidación

Pruebas de validación adicionales serán requeridas bajo las siguientes circunstancias:
Cambios en el agente de limpieza o sanitizante.
Cambios en el procedimiento de limpieza.

Validación adicional puede ser requerida bajo las siguientes circunstancias y que sean evaluadas por el jefe de validación.

Modificaciones a la superficie de contacto del producto con el equipo.

Introducción de un nuevo producto o cambios a una formulación existente.

8.0 DOCUMENTOS FALTANTES

8.1 En el momento que este llevando a cabo la Validación del equipo y algún documento no exista, anotarlo en el formato de documentos faltantes, solicitando al responsable de elaboración del documento una fecha de entrega y su firma.

8.2 Al cumplimiento de esta fecha, el documento si no esta elaborado y autorizado por los responsables, se levantara una desviación conforme lo marca el punto 10.

9.0 DESVIACIONES DETECTADAS DURANTE LA CALIFICACIÓN

9.1 Las desviaciones encontradas y acciones correctivas tomadas durante la validación del sistema deberán documentarse en el formato correspondiente

9.2 Se deberá dar seguimiento a la corrección realizada con la finalidad de verificar que se elimine la desviación encontrada. La documentación generada por esta actividad deberá anexarse al expediente de calificación.

10.0 CONTROL DE CAMBIOS

11.1 Los departamentos de Aseguramiento de calidad y Servicios técnicos deben ser notificados de cualquier cambio realizado al equipo, procedimiento de limpieza o proceso de manufactura por parte de mantenimiento o producción para evaluar el impacto de éstos en el estudio de validación.

- Cambios menores: No tienen un impacto relevante por lo cual no requiere ser validado, sin embargo pueden requerirse estudios adicionales

PROTOCOLO DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

TITULO:

VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE SUPERFICIES DE EQUIPOS QUE
TENGAN CONTACTO CON NIMESULIDA

- Cambios Mayores: Cambios que no son representativos del esquema de validación, requieren ser validados

11.0 CRITERIOS DE RECALIFICACIÓN

11.1 La recalificación se hará basándose en un programa o en caso de existir un cambio en el sistema, y dicho cambio se haya considerado como crítico.

12.0 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

Elaboración de procedimientos normalizados de operación, código PNOVAL-001.USP
28, NF
Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos FEUM, Octava Edición

13.0 DISTRIBUCIÓN

Gerente de Control de Calidad
Gerente de producción
Jefe de Aseguramiento de Calidad
Químico de Validación

14.0 ANEXOS

Ver Anexo 13

15.0 GLOSARIO

N/A



ANEXO 13

FORMATOS Y SOLICITUDES

SOLICITUD DE ÁREA Y/O EQUIPO		
ÁREA DE VALIDACIÓN		
ÁREA: <input style="width: 95%; height: 20px;" type="text"/>	FECHA: <input style="width: 95%; height: 20px;" type="text"/>	
EQUIPO: <input style="width: 95%; height: 20px;" type="text"/>	CODIGO: <input style="width: 95%; height: 20px;" type="text"/>	
PARA EFECTUAR: <input style="width: 95%; height: 40px;" type="text"/>		
CANTIDAD	EQUIPO Y/O MATERIAL	
CONDICIONES NECESARIAS DEL ÁREA Y/O EQUIPO SOLICITADO <div style="border: 1px solid black; height: 80px; margin-top: 5px;"></div>		
PERSONAL QUE AUTORIZA EL USO DEL ÁREA Y/O EQUIPO <small>(Nombre y fecha)</small>	FECHA PARA EL USO DEL ÁREA Y/O EQUIPO	FECHA PARA EL USO DEL ÁREA Y/O EQUIPO
		URS.
OBSERVACIONES: <div style="border: 1px solid black; height: 40px; margin-top: 5px;"></div>		
REALIZO Q. Validación	Vo. Bo. J. A. Calidad	RECIBIDO Responsable del área y/o equipo



SOLICITUD DE ANÁLISIS PARA VALIDACIÓN			
ÁREA DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD			
SOLICITADO POR EL AREA DE:		DEPARTAMENTO:	
SOLICITADO:	FECHA:	RECIBIDO:	FECHA:
INGREDIENTE ACTIVO A DETERMINAR		No. LOTE	
CONCENTRACION:	TIPO DE MUESTREO	EQUIPO MUESTREADO	
SOLVENTE UTILIZADO	ANALISIS:		
		FISICO	<input type="checkbox"/>
		QUIMICO	<input type="checkbox"/>
		MICROBIOLOGICO	<input type="checkbox"/>
		OTRO	<input type="checkbox"/>
FECHA DE ENTREGA DE RESULTADOS:			
OBSERVACIONES:			



ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

VALIDACION DE PROCESOS DE LIMPIEZA DE EQUIPOS DE FABRICACIÓN

Fecha: _____

Equipo a validar:

Código:

Área de ubicación:

Código:

Fecha de limpieza _____

Puntos de muestreo

- 1.- _____
- 2.- _____
- 3.- _____
- 4.- _____
- 5.- _____
- 6.- _____
- 7.- _____
- 8.- _____
- 9.- _____
- 10.- _____

Ingrediente activo a evaluar: _____

Solvente utilizado: _____

Sanitizante utilizado: _____

Fecha de Muestreo: _____

Químico de validación: _____



REPORTE DE VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

AREA DE ASEGURAMIENTO DE CALIDAD

PNO DE LIMPIEZA UTILIZADO :

CÓDIGO: _____

CLAVE DEL EQUIPO: _____

CLAVE DEL ÁREA: _____

RESULTADOS:

LIMPIEZA VISUAL:

RESIDUO DE SANTIZANTE:

RESIDUO DE ACTIVO:

MICROBIOLÓGICO:

OBSERVACIONES:

CONCLUSIONES:

Elaboró: _____

Puesto _____

Fecha : _____

Revisó: _____

Puesto _____

Fecha : _____



10. BIBLIOGRAFIA

1. A. Carol, Cleaning Validation of Process Equipment, Services Validation, SOP U-0200, Apotex Canada. Acceso Restringido
2. Active Pharmaceutical Ingredients Committee (APIC), Cleaning validation in active pharmaceutical ingredient manufacturing plants, Septiembre 1999.
3. Active Pharmaceutical Ingredients Committee (APIC), Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants. Diciembre 2002.
4. Alconox, Inc. 7 de Abril de 2003, [http:// www.alconox.com/static/section_customer / ind_pharm.asp](http://www.alconox.com/static/section_customer/ind_pharm.asp).
5. Alfredo J. Canhoto, A semi-quantitative matrix for selecting an appropriate cleaning validation "Worst-Case" challenge soiling solution, Journal of validation technology (11), 6-14. (2004)
6. B. Heimbecker, Setting acceptance Limits for chemical residues on process equipment, Services Validation, SOP U-0220, Apotex Canada. Acceso Restringido 32
7. Brian Wallas, Robert Stevens y Mike Purcell, "implementación del análisis de Carbón Orgánico Total para la Validación de Limpieza", Pharmaceutical Technology. (2), 20-24. (2004).
8. By Pei Yang, "Cleaning Validation Assay-Qualification of cleaning Procedures for a Small-Molecule residual active pharmaceutical Ingredient (API)", Journal of Validation Technology. 10(4), 280-299 (2004).



-
9. Biocleaner Enterprise, S.A de C.V. www.buckeye.com
 10. Code of Federal Regulation. Title 21 - Food and Drug, Chapter 1 - Food and Drug Administration, Department of Health and Human Services. Part 211.67 Equipment cleaning and maintenance, 21 CFR (4-1-97-Edition).
 11. Destin A. LeBlanc, Establecimiento de criterios de aceptación científicamente justificados para la validación de limpieza de productos farmacéuticos terminados, Pharmaceutical Technology, Febrero 1999, p.p. 33 - 39
 12. Dixon Anne Marie, Validation of Pharmaceutical Process, Sterile Products, 2nd Ed., edited by F.J. Carleton and J.P Agalloco, 319-349 (1993)
 13. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 8va. Edición. Secretaría de salud. México 2005, p.p. 617-621
 14. Food and Drug Administration. 6 de marzo de 2004. Guide to inspection validation of cleaning processes. <http://www.fda.gov>.
 15. Guía de Validación de métodos analíticos, Colegio Nacional de Químicos Farmacéuticos Biólogos, México, 2002.
 16. Guía de Procesos de Limpieza y su Validación en áreas de fabricación. CIPAM, 1999
 17. Guía de Validación de Métodos analíticos: limpieza de equipos, CIPAM, 2004



-
18. Herbert J. Kaiser & Bruce Ritts, " Validation of Analytical Methods Used in Cleaning Validation", Journal of Validation Technology. 10(3), 219-234 (2004).
 19. Layton. D. W. Mallon, B. J. Rosenblatt. Deriving Allowable Daily Intakes for systemic Toxicants Lacking Chronic Toxicity Data. Journal of regulatory Toxicology and pharmacology 7, 96(1987)
 20. Lisseux Castilla Valentin, Validación de la limpieza del reactor empleado en la preparación de medicamentos, Revista Farmacéutica Cubana. 35(1), 34-39 (2001).
 21. McCormick, P.Y. and Cullen, L..F., in Pharmaceutical Process Validation, 2nd Ed., edited by I:R: Berry and R:A: Nash, 645-668 (1999)
 22. Manual User's, Total Organic Carbon Analyzer TOC-V_{CPH/CPN}, Shimadzu Corporation, 2001
 23. Merck Research Laboratories, The Merck Index, 12va. Edición 1996
 24. Norma Oficial Mexicana. Proyecto de Norma Oficial Mexicana PROY-NOM-059-SSA1-2003, Buenas Practicas de Fabricación para Establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica dedicados a la fabricación de Medicamentos" Diario Oficial de la Federación; SSA, México 1998.
 25. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993, Buenas practicas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos. México SSA, 1993



-
26. Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998, Buenas prácticas de fabricación para fármacos. Diario Oficial de la Federación, 2000
 27. Organización Mundial de la Salud (OMS), Good Manufacturing practices for pharmaceutical excipients, Reporte 35, Anexo 5, Ginebra 1999.
 28. Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection co-operation Scheme " PIC/s", Good Manufacturing practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients, PE 007-2, Julio 2004.
 29. Pharmaceutical Inspection Convention, Pharmaceutical Inspection co-operation Scheme " PIC/s", Validation Master Plan, Installation and operational Qualification, Non-Sterile process Validation, Cleaning validation, PI 006-2, 1 Julio 2004.
 30. Proceso de limpieza y desinfección. Curso, Silva Triste Juan, 2003
 31. Quality Policy applies to all operational areas involved in the manufacture of commercial product . Cleaning validation, POL-015-X, Quality Assurance, Apotex, Canada. Acceso Restringido
 32. Shimadzu, Curso Validación de limpiezas por TOC, Noviembre 2002
 33. Seymour S. Block. Disinfection, Sterilization, and Preservation. 3^o Edition. p.p. 150-390 (1983).
 34. The United States Pharmacopeia-National Formulary (USP 28, NF 23), Enero 2005



-
35. William E. Hall, " Determining Appropriate acceptance criteria for cleaning Programs in pharmaceutical Facilities", *Journal of Validation Technology*. 10(2), 120-130 (2004).
36. Zayas Zayas Luis, "Validación de limpieza", *Informaceutico*. 10(2), 39-43 (2003).