



# Universidad Nacional Autónoma de México

---

---

Facultad de Química

AVANCES EN LA VALIDACIÓN DEL  
PROCESO DE LIMPIEZA

TRABAJO ESCRITO VÍA CURSOS  
DE EDUCACIÓN CONTINUA  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICO FARMACÉUTICA BIOLÓGA

P R E S E N T A

ADRIANA LÓPEZ MONTES



México, D.F.

2009



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:** Georgina Margarita Maya Ruiz

**VOCAL:** María del Socorro Alpizar Ramos.

**SECRETARIO:** Iván Alejandro Franco Morales.

**1er. SUPLENTE:** Raúl Lugo Villegas.

**2do. SUPLENTE:** Jorge Rafael Martínez Peniche.

## **FACULTAD DE QUÍMICA**

Asesor: **M. en F. María del Socorro Alpizar Ramos**

Sustentante: **Adriana López Montes**

## AGRADECIMIENTOS

*El agradecimiento surge cuando una persona se siente en deuda con otra, porque le ha producido algún bien, le ha brindado un servicio o bien le ha hecho algún regalo.*

*Las personas agradecidas se alegran por los bienes recibidos, los reconocen y están dispuestas a corresponderlos.*

*No se trata de devolver favor con favor, ni regalo con regalo, sino de sentir y expresar admiración y gratitud por las calidades humanas de quienes nos honran con sus dones.*

*Cada uno de nosotros tiene siempre mucho que agradecer y cuidar lo recibido, y está es una forma de hacer evidente nuestro reconocimiento.*

*Entre los bienes que más agradece el hombre se encuentran la vida, la salud, la amistad, la lealtad y las enseñanzas.*

*La gratitud y el reconocimiento son los mejores regalos que uno puede recibir así que ahora me toca a mí:*

*Como un testimonio de cariño y eterno agradecimiento a las personas que más admiro que son **mis padres Heptalin y Amparo** por mi existencia, valores morales, educación, enseñanzas, amor y formación profesional. Porque sin escatimar esfuerzo alguno, han sacrificado gran parte de su vida para formarme y porque nunca podré pagar todos sus sacrificios, ni aún con las riquezas más grandes del mundo. Por lo que soy y por todo el tiempo y dedicación que me han brindado y sé que lo seguirán haciendo, Gracias! Con amor y respeto.*

*Son tantas personas a las cuales debo parte de este triunfo, de lograr alcanzar esta primera culminación académica, la cual es el anhelo de todos los que así lo deseamos.*

**A ese grupo de amigos** entrañables, amigos del alma, de secretos, de risas, de tristezas, de angustias, de conciertos, de estudio, etc., amigos de toda la vida, que lo aguantan todo, a cambio muchas veces de nada... Ellos siempre receptivos, dando ánimos, sinceros y honestos, comprensivos, que da gusto hablar con ellos. Gracias a: Antonia, Karla, Fanny, Sofía, Caro, ese grupo de chicas fantástico que conocí y me apoyaron a lo largo de la carrera; pero también como olvidar a: Ricardo, Pilar y Macario (que me han hecho pasar buenos momentos en la facultad, me han hecho sonreír, divertirme, conocer, etc.), a la Jarriband (Belen, Sofía, Cristian, Helivier y Adrián), Lluvia y Bianca (por aventuras, conciertos y fiestas), Antonino, Enrique Gerardo, Aldo, Max, Juan, Walter, a los chicos que abandonaron Química y tomaron otro rumbo en Ciencias: Abraham y Omar. En general a todos mis amigos pasados y presentes; pasados por ayudarme a crecer y madurar como persona y presentes por estar siempre conmigo apoyándome en todo las circunstancias posibles, porque aunque pueda sonar increíble aún en el trabajo podemos encontrar amigos GRACIAS: Vero, Vianey, Palafox, Kary, Paty, Mariana, Jesús, Ricardo, Adrián, Gersom, Edgar, Larry y Gerardo, también son parte de esta alegría.

*En especial también quisiera realizar una mención especial a **Vero** que fue una persona muy especial en mi vida, porque fue una gran amiga, que teníamos muchos planes, aventuras y metas por cumplir en este año, lamentablemente se adelantó, pero este trabajo se lo dedicó con mucho cariño y amor, porque es un sueño que también anhelaba y que estaba trabajando con gran esfuerzo para culminarlo. Te quiero y algún día nos encontraremos. Sigue guiándonos. Gracias por haber existido.*

*A mi hermano y familia por el cariño y apoyo para poder llegar hasta este logro, que definitivamente no hubiese podido ser realidad sin ustedes.*

Gracias a todos los profesores que a lo largo de la carrera me compartieron sus conocimientos y me enseñaron que nunca dejamos de aprender y siempre y toda la vida lo seguiremos haciendo, gracias por los consejos y sabiduría.

Definitivamente Gracias a la **Universidad Nacional Autónoma de México** y a la **Facultad de Química**, por la formación, por las vivencias y por la oportunidad de haber estudiado aquí en mi segunda casa, siempre estaré orgullosa de ello.

Gracias a **Dios**, que me guió en alcanzar esta meta, esta alegría, que si pudiera hacerla material.

Por último Gracias a mi Reality Separate por apoyarme, quererme, confiar y creer en mí.

No me queda más que decir que: GRACIAS TOTALES

**Adriana López Montes.**



# INDICE

<b>TEMA</b>	<b>PAGINA</b>
<b>1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA</b>	<b>1</b>
<b>2. INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA</b>	<b>3</b>
2.1 VALIDACIÓN	3
2.1.1 TIPOS DE VALIDACIÓN	4
2.2 GENERALIDADES DEL PROCESO DE LIMPIEZA	5
2.2.1 VALIDACIÓN DE LIMPIEZA	6
2.2.2 PRINCIPIOS DE LIMPIEZA	7
2.2.3 TÉCNICAS DE LIMPIEZA	8
2.2.3.1 GRADO DE LIMPIEZA	11
2.2.4 CICLO DE LIMPIEZA	12
2.2.5 PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN (PNO's)	13
2.2.6 AGENTES DE LIMPIEZA Y SANITIZANTES	14
2.2.6.1 AGENTES DE LIMPIEZA	14
2.2.6.2 SANITIZACIÓN	16
2.2.6.3 SELECCIÓN DEL SANITIZANTE	17
2.2.7 VALIDACIÓN DEL PROCESO DE LIMPIEZA	18
2.2.8 EVALUACIÓN DE LIMPIEZA	19
2.2.8.1 EVALUACIÓN Y SELECCIÓN DEL PRODUCTO PARA ANÁLISIS DE LIMPIEZA (PEOR CASO)	19
2.2.9 MÉTODOS DE MUESTREO	23
2.2.10 MÉTODOS ANALÍTICOS	25
2.2.10.1 PARÁMETROS DE UNA VALIDACIÓN DEL MÉTODO ANALÍTICO	30
2.2.11 ESTABLECIMIENTO DE LOS CRITERIOS DE LIMPIEZA	32
2.2.12 CONSIDERACIONES MICROBIOLÓGICAS	42
<b>3. DISCUSIÓN</b>	<b>43</b>
<b>4. CONCLUSIONES</b>	<b>48</b>
<b>5. BIBLIOGRAFÍA</b>	<b>49</b>



## 1. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Toda persona en algún momento de su vida ha tenido la necesidad de adquirir un medicamento para aliviar las molestias, signos y síntomas de una enfermedad y/o padecimiento.

Para alcanzar, asegurar y mantener la calidad de los medicamentos se requiere entre muchas otras cosas de un programa de limpieza y sanitización formal, consistente y eficaz; así como también de un trabajo en conjunto con diversas áreas, es decir, se necesita de un equipo multidisciplinario; es por ello que los procedimientos de limpieza de áreas, equipos y material son de gran importancia.

En la industria farmacéutica la limpieza de las áreas de producción, equipos, instrumentos y material es muy importante, ya que la presencia de materia extraña puede provocar varios tipos de contaminación y como consecuencia, el rechazo del producto, originando a pérdidas económicas importantes, pero también lleva a dar una mala imagen del laboratorio farmacéutico productor, en caso de que estos salgan al mercado.

En la industria farmacéutica se invierte una cantidad considerable de dinero en la elaboración, investigación y desarrollo de nuevos medicamentos, nuevas formas farmacéuticas, así como en el estricto control de calidad de los mismos, incluyendo a principios activos y excipientes, equipos y personal altamente calificado y eficiente.

Así mismo existe un gran interés en desarrollar e implementar métodos para validar los procesos de limpieza, porque actualmente no existen especificaciones establecidas por alguna entidad regulatoria, sin embargo, estas si exigen que se cuente con un programa de validación de limpieza basado en procesos de limpieza detallados, capacitación, protocolos de validación, métodos químicos y microbiológicos validados y un programa de control de cambios.



Para abordar el tema de Validación de Limpieza, se debe de entender el proceso, en general la limpieza es un procedimiento o práctica a través de la cual evitamos la contaminación de los productos que están siendo fabricados, prevenimos la contaminación del siguiente lote a fabricar y eliminamos la contaminación microbiana.

En el presente trabajo se propone realizar un estudio de los avances de la Validación del proceso de limpieza en la industria farmacéutica, en los últimos años.

Con la validación de limpieza se van a ver beneficiados tanto las compañías farmacéuticas que fabrican los medicamentos, como el consumidor del producto, ya que como principal beneficio, le permite adquirir productos de calidad.





## 2. INFORMACIÓN GENERAL SOBRE EL TEMA

### 2.1 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 de calidad establecidas.<sup>1</sup>

Los tres principales objetivos de la validación son:

- i) **Confiabilidad**, en todos los factores que directa e indirectamente influyen en la calidad del producto.
- ii) **Seguridad**, eliminar todo tipo de riesgo o confusión.
- iii) **Efectividad**, basada en la reproducibilidad de los productos controles.

#### ¿Por qué se debe de validar?

Un sistema validado es un sistema estable, capaz y robusto y es así como nos interesa mantenerlo, dado que estas características son esenciales para mantener la calidad.

Con la validación de procesos se busca conseguir los siguientes beneficios:

- a) Asegurar la calidad
- b) Reducir costos
- c) Aumentar la productividad
- d) Reducción de rechazos y re-procesos
- e) Optimizar procesos
- f) Cumplir con requerimientos regulatorios gubernamentales
- g) Reducción de pruebas en proceso y en producto terminado



## ¿Qué se debe validar?

En la validación de un proceso se deben considerar todos aquellos factores que intervienen en el mismo y que básicamente son:

- Los proveedores de materias primas
- Los equipos e instrumentos
- Los sistemas críticos
- Las instalaciones y áreas
- El personal
- La fase operativa

Estos factores tienen un efecto directo o indirecto que impactan en la calidad final del producto.

### 1.1.1 TIPOS DE VALIDACIÓN

La validación puede clasificarse en tres tipos:

- Validación retrospectiva
- Validación prospectiva
- Validación concurrente

La **validación prospectiva** es la evidencia documentada generada desde el desarrollo del producto hasta la producción industrial. Esta validación es aplicable a nuevos productos, reformulaciones o cambios de equipo en el proceso.

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. El área de Producción debe comprobar que sus sistemas operativos estén trabajando correctamente; por otra parte 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 fabricar rutinariamente con confianza basándose en un protocolo establecido.



La **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.

La **validación retrospectiva** es la evidencia documentada basada en datos acumulados de producción y control que demuestran que el producto ya está siendo fabricado bajo condiciones controladas.

Es importante mencionar que también existe la **revalidación** y esta consiste en la introducción de un cambio que pueda afectar a la idoneidad del proceso establecido por la validación que podrá exigir una nueva validación es decir, una revalidación total o parcial de dicho proceso.

Entre los motivos que exigen una nueva validación se tienen:

- Cambios importantes en los parámetros del proceso (formulación, tamaño de lote, etc.).
- Cambios importantes en los materiales iniciales (naturaleza del principio activo, granulometría, densidad, etc.)
- Cambios de equipo (instalaciones, equipo, etc.)
- Cambios en las especificaciones
- Cambios en las técnicas analíticas.
- Por vigencia

## 1.2 GENERALIDADES DEL PROCESO DE LIMPIEZA

La NOM-059-SSA1-2006, Buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, en el punto 14.8.1 de validación de limpieza establece que esta debe realizarse con el fin de confirmar la efectividad de un procedimiento o método de limpieza; y en los puntos 7.4.1.1 y 7.4.1.2 de documentación, se menciona que se debe contar con procedimientos normalizados de operación para limpieza, sanitización y operación de equipos así como PNO's para las áreas de producción de toda la planta, enfatizado en



las áreas donde el producto se encuentra expuesto y donde se puede ver afectada la calidad.<sup>1</sup>

El CFR 21 parte 211.67 establece que 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 más allá de los requerimientos oficiales o de otros establecidos.<sup>2</sup>

Se pretende que los medicamentos promuevan la salud, sin embargo, cuando un compuesto residual permanece en el proceso de manufactura, el potencial de efectos colaterales proveniente de niveles tóxicos de los contaminantes se incrementa. La validación del proceso de limpieza documenta en que puntos fallará el procedimiento de limpieza cuando los parámetros se reduzcan al escenario del peor caso.

### 2.2.1 VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

**La Validación de Limpieza** se define como la evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza para las áreas y equipos usados en la fabricación de medicamentos reduce a un nivel preestablecido los residuos del agente de limpieza y producto procesado.<sup>1</sup>

Antes de continuar con el tema es necesario definir algunos conceptos como:

- **Contaminación:** a la presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables.<sup>1</sup>
- **Contaminación cruzada:** a la presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables, procedentes de un proceso o producto diferente.<sup>1</sup>
- **Limpieza:** se define como el proceso para la disminución de partículas no viables a niveles establecidos.<sup>1</sup>



- **Residuo:** se refiere a cualquier producto intermediario, excipiente, agente de limpieza, el cual pueda encontrarse en la superficie del equipo y/o área seguido de un proceso de fabricación.

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 laboratorio farmacéutico, será la forma de efectuar de manera eficiente dichos procesos. Algunas consideraciones que se deben tomar en cuenta en los procesos de limpieza son:

- a) Diseño del equipo.
- b) Procesos asépticos y no asépticos.
- c) Las diferentes áreas de producción: inyectables, líquidos, sólidos, semisólidos, etc.

### 2.2.2 PRINCIPIOS DE LIMPIEZA

Existen cuatro factores que afectan la limpieza que se tienen que conocer y que deben ser considerados en el procedimiento de limpieza porque son dependientes entre sí, es decir, que una alteración en alguno de ellos se verá reflejado en dicho proceso. Los factores son:

- i. **Factor mecánico:** se refiere al proceso de limpieza en el que se incrementa la remoción de residuos, por ejemplo: cepillado manual o choque de partículas de agua por un sistema a alta presión.
- ii. **Factor químico:** los agentes de limpieza son detergentes (tensoactivos) o solventes compuestos por una mezcla de surfactantes, secuestrantes y reguladores de pH logrando la remoción de residuos. Los solventes son utilizados generalmente para extraer algo que no se quita con el detergente o bien para sanitizar.



- iii. **Factor térmico:** se refiere a la temperatura del agente de limpieza, la cual cuando esta es alta se favorece la remoción de residuos, el aumento de temperatura ocasiona que la unión entre el residuo y la superficie del equipo y/o área en el que éste se encuentra adherido disminuya e incremente la solubilidad de los materiales solubles; sin embargo al aumentar demasiado la temperatura, se pueden fijar más los residuos y por lo tanto la eficiencia del lavado se ve disminuida.
- iv. **Tiempo:** el agente de limpieza que se utilice se debe dejar actuar el tiempo necesario para que logre ejercer su acción; entre mayor sea el tiempo que se deje se va a lograr remover mayor cantidad de residuo, sin embargo, a un tiempo determinado aunque se deje más tiempo ya no va a aumentar la cantidad eliminada de manera significativa por lo que será muy importante establecer la relación tiempo y secuencia.

Estos factores se deben considerar cuando se esté diseñando el procedimiento de limpieza, por tanto, si se demuestra que se realizó la evaluación de estos factores, se estará considerando la evaluación de riesgos.

### 2.2.3 TÉCNICAS DE LIMPIEZA

Existen varios tipos de técnicas de limpieza, sin embargo es importante mencionar que la clasificación que a continuación se presentará no es formal, es decir, no existe una diferencia fundamental entre ellas ni superioridad de una con respecto a la otra, lo que importa es que el método de limpieza seleccionado debe demostrar que se producen los niveles deseados de limpieza de manera consistente:

- a) Por el sistema empleado
- b) Por el lugar en donde se realiza
- c) Dependiendo de lo que se haya fabricado
- d) Por el método empleado



### a) Por el sistema empleado

- *Limpieza automática*

La intervención del operador solo consiste en adicionar al contenedor del agente de limpieza el mismo. Los equipos más comunes son sistemas cerrados completamente automáticos (CIP). Actualmente existen procedimientos de limpieza automatizados, los cuales son más fáciles de validar y generalmente proporcionan una mejor reproducibilidad.

- *Limpieza 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 (CIP) tales como lavadoras, tanques con bombas, liofilizadores, etc.

- *Limpieza manual*

Limpieza que depende principalmente de la disciplina y eficiencia del operador y del correcto seguimiento y aplicación del procedimiento normalizado de operación (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.

### b) Por el lugar en donde se realiza

- *Limpieza Fuera de Sitio (COP: Clean Out of Place)*

Se refiere a la limpieza de partes desarmadas del equipo, se realiza en un tanque especial de lavado donde el agua y la solución de limpieza son recirculadas por una bomba centrífuga a través de la salida y entrada del tanque. Esta técnica se utiliza principalmente para partes de equipo que no pueden limpiarse armadas.



- *Limpieza en el Sitio (CIP: Clean In Place)*

Es la limpieza de un equipo por recirculación controlada de agua, soluciones de limpieza o soluciones desinfectantes, sin desarmar el equipo; estos sistemas están diseñados para permitir que las soluciones de limpieza entren en contacto con las superficies sucias y además que éste contacto se continúe cuanto sea necesario. Esto implica que un alto volumen de solución sea aplicado a las superficies sucias durante tiempos que varían entre cinco minutos y una hora.

**c) Dependiendo de lo que se haya fabricado**

- *Seriadas*

Es la que se realiza cuando una serie de lotes del mismo producto son fabricados consecutivamente, producidos en un periodo de no más de una semana. En ellos no se requiere de una limpieza profunda y generalmente se requiere que el equipo sea lavado y enjuagado con agua purificada. Estas medidas dejan esencialmente libre de cualquier producto visible.

- *No seriadas*

Es aquella que se usa periódicamente al final de una serie de lotes que dejan un nivel específico de residuos o en el cambio de producto a fabricar en ese equipo, este tipo de limpieza es más estricto.

**d) Por el método empleado**

- *A alta presión*

Se emplean presiones altas para rociar el agente de limpieza sobre el equipo a limpiar y la limpieza se efectúa por el choque de las gotas sobre la superficie.

- *Con espuma*

Se forma una capa de espuma sobre la superficie a limpiar, una vez que transcurre un tiempo determinado (aprox. 5 –15 minutos), la espuma se





remueve mediante un enjuague con agua. La limpieza se efectúa por el efecto combinado de la acción química del agente de limpieza y el tiempo.

- *Con vapor*

Está basada en la inyección de grandes volúmenes de vapor (140 °C, 350 L/h) mezclado con un agente de limpieza a concentraciones de 0,5 a 1%.

### 2.2.3.1 GRADO DE LIMPIEZA

El grado de limpieza se clasifica en:

- a) **Parcial (mínima 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; el objetivo de esta se centra en el control microbiológico.
- b) **Profunda (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, según lo determine el laboratorio farmacéutico de acuerdo al tipo de producto o proceso.
- c) **Exhaustiva:** esta aplica cuando proceda una limpieza especial, como después de una remodelación del área y/o cambio mayor o bien mantenimiento programado o correctivo.



#### 2.2.4 CICLO DE LIMPIEZA

Los pasos para llevar a cabo un ciclo de limpieza van a variar de acuerdo al producto y equipo a limpiar, sin embargo de forma general se explican los ciclos de limpieza a seguir:

- a) Prelavado–Inspección. Tiene como propósito eliminar residuos de gran tamaño y es usualmente el paso que más depende del operador. Se realiza un lavado ligero con agua caliente ( $> 65\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) para remover los residuos fijados, para con ello minimizar el crecimiento microbiano.
- b) Lavado. Se considera el lavado de cada pieza en particular, se realiza utilizando agentes químicos en concentraciones bien definidas. La función de esta etapa es la eliminación de residuos que generalmente son eliminados por disolución.
- c) Enjuague inicial. En esta etapa se disuelven la mayoría de los residuos materiales. Para el enjuague inicial se recomienda el uso de agua purificada o destilada, aunque el uso de agua potable también es válido siempre y cuando se garanticen resultados satisfactorios.
- d) Lavado intermedio. Se realiza un lavado con agua caliente del tanque de recuperación y posteriormente se realiza otro lavado con agua caliente del tanque de agua purificada o destilada, es decir, que no sea agua de recirculación, para con ello remover los residuos del primer lavado.
- e) Enjuague final. Es usado para remover los residuos de detergente o desinfectante, a su nivel final sin introducir ningún contaminante potencial, para ello se debe utilizar agua de alta calidad, se realiza con agua purificada o agua grado inyectable cuando el proceso lo requiere.



- f) Sanitización. Se realiza con solución desinfectante, ésta puede ser opcional ya que en caso de que no exista contaminación microbiana durante la limpieza, la desinfección se vuelve innecesaria; así mismo la desinfección involucra una contaminación del sistema por la introducción del desinfectante y el uso rutinario del mismo puede promover la resistencia microbiana.
- g) Secado. Este se realiza empleando vacío y calor latente del equipo después del enjuague final con agua caliente, o bien con aire comprimido caliente se evaporan los restos de agua.

### **2.2.5 PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN (PNO's)**

Los PNO's son los documentos escritos en donde se describen de manera 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 capacitación de los operarios en dichos procedimientos, son un elemento esencial dentro de la validación de limpieza.

El principal objetivo del PNO será indicar los pasos a seguir para realizar la limpieza del equipo para que no represente una fuente de contaminación para los productos que se manejen en él.

El PNO deberá contener los siguientes requisitos:

- a) Título
- b) Objetivo
- c) Alcance
- d) Responsabilidades
- e) Desarrollo de actividades
- f) Bibliografía
- g) Anexos
- h) Hoja de capacitación sobre dicho PNO



Y de manera más detallada debe especificar:

- Nombre del equipo y/o área
- Diagramas y/o planos del equipo (indicar el desarmado cuando este aplique) o área.
- Identificación y localización del equipo o área.
- Descripción detallada de los métodos de limpieza
- Especificar los agentes de limpieza
- Condiciones de preparación, concentración y uso de agentes de limpieza y sanitizantes.
- Materiales y utensilios
- Precauciones en el manejo de sustancias y equipos.
- El equipo de seguridad
- Frecuencia de ejecución
- El tiempo de cada paso
- El volumen y la temperatura del agua a emplear así como el tipo de agua.
- Los criterios de aceptación
- Las acciones correctivas

## **2.2.6 AGENTES DE LIMPIEZA Y SANITIZANTES**

Los agentes de limpieza se centrarán en la remoción de partículas y los sanitizantes se enfocarán en la destrucción y/o inactivación de microorganismos.

### **2.2.6.1 Agentes de limpieza**

Los residuos se adhieren a las superficies de equipos y áreas de fabricación por fenómenos físicos, para eliminar dichos residuos se emplean agentes de limpieza que deben ser seleccionados de manera adecuada dependiendo del tipo de proceso de fabricación y del producto.



La limpieza es un prerrequisito para una sanitización efectiva, esta comienza con un programa efectivo de limpieza ya que la presencia de algunos compuestos orgánicos pueden reducir la efectividad de algunos sanitizantes.<sup>3, 4, 5.</sup>

El agente de limpieza más utilizado es el agua (cruda, purificada, destilada y agua grado inyectable). Los agentes de limpieza se clasifican de acuerdo a: su estructura química y/o su uso comercial.

**i. Por su estructura química**

- *Agentes complejantes*: EDTA.
- *Agentes oxidantes*: hipocloritos.
- *Constructores*: polifosfatos, gluconatos, citratos, EDTA.
- *Desespumantes*: etoxilatos de óxido de propileno.
- *Inhibidores de la corrosión*: silicatos, carbohidratos modificados.
- *Solventes*: etanol o isopropanol

**ii. Por su uso comercial**

- *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 utilizan para superficies brillantes.
- *Agentes alcalinos*: contienen generalmente 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.



### 2.2.6.2 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 deberá realizarse en un tiempo no mayor a 30 segundos). La selección y preparación de un desinfectante, junto con métodos adecuados de uso y de retiro, garantizan los niveles de control requeridos. No existe el desinfectante ideal, los criterios de selección son complejos, pero el criterio más importante del proceso de selección es la reducción de microorganismos.

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

- a) *Alcoholes*: los más empleados como desinfectantes son el etanol e isopropanol. La eficacia de estos solventes orgánicos se basa en su capacidad de extraer lípidos de la membrana de la célula.
- b) *Detergentes*: son compuestos cuaternarios de amonio que interrumpen la interacción entre la proteína y los lípidos de las membranas de la célula, de tal modo que causan la desintegración de la membrana.
- c) *Halógenos*: son fuertes agentes oxidantes que causan la destrucción de la proteína celular oxidando a grupos sulfhidrilo a  $\text{SO}_2$ . Como por ejemplo: bromo, hipoclorito, yodo, etc.
- 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 (compuestos altamente tóxicos).



### 2.2.6.3 Selección del sanitizante

De acuerdo a la *Guide to inspections validation of Cleaning processes* de la FDA establece: “al igual que con los residuos de productos, es importante y es de esperar que el fabricante evalúe la eficacia del proceso de limpieza para la eliminación de los residuos”.<sup>5, 6.</sup>

Al seleccionar el agente sanitizante adecuado, se deben tener presentes las siguientes ocho propiedades:

1. Limpieza
2. Corrosión
3. Actividad residual
4. Estabilidad
5. Contaminación iónica
6. Olor
7. Eficacia
8. Compatibilidad del producto

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 la cuales entra en contacto. Se deben probar la compatibilidad con las superficies antes del uso de los desinfectantes.
3. Actividad residual: es el tiempo de acción que puede estar un desinfectante sobre una superficie.
4. Estabilidad, se refiere a:
  - I. Vida útil como solución concentrada y diluida
  - II. 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, aquellos que contienen sodio, potasio, cloruros, etc., deben ser evitados, porque estos elementos pueden destruir 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 bio-contaminación.
8. Compatibilidad del producto: el agente de limpieza no debe crear una reacción con el producto.

Los procedimientos de sanitización no están dentro del alcance de este trabajo, sin embargo es importante hacer notar que el control de la carga microbiana a través de una adecuada limpieza y almacenamiento de equipo es importante para asegurar la calidad del producto.

Es muy importante que en los procedimientos de limpieza se incluyan las condiciones de almacenaje del equipo, el tiempo entre limpieza y reutilización del mismo, con el fin de limitar la proliferación microbiana.

### **2.2.7 VALIDACIÓN DE PROCESOS DE LIMPIEZA**

La validación de limpieza debe realizarse con el fin de confirmar la efectividad de un procedimiento o método de limpieza. Un programa de validación de limpieza completo deberá 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 de diseño de un proceso de validación de limpieza y un método de análisis de datos.<sup>7, 8, 22, 23.</sup>





## **2.2.8 EVALUACIÓN DE LIMPIEZA**

### **2.2.8.1 Evaluación y selección del producto para análisis de limpieza (peor caso)**

La validación de limpieza de áreas y equipos debe comenzar con la evaluación de los productos que son fabricados; cuando en un equipo se fabrican diferentes productos resulta más práctico limitar la cantidad de análisis a realizar, ya que el evaluar cada uno de los productos fabricados en cada equipo resultaría costoso para la empresa, es por ello se emplea la situación de “el peor caso” (worst case), el cual es seleccionado mediante una matriz de productos; esta selección puede estar basada en la solubilidad, dificultad de limpieza, concentración y/o toxicidad.<sup>1,2</sup>

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 es el producto seleccionado como el “peor caso”.

El primer paso para elaborar la matriz es seleccionar los equipos y los productos que se fabrican en ellos, posteriormente se revisa la técnica de limpieza en los PNO's de limpieza para cada equipo, con esta información se forman grupos de productos para cada equipo y posteriormente se forman subgrupos dependiendo de los siguientes criterios:

- i) Dificultad para limpiar (experiencia de producción)
- ii) Solubilidad
- iii) Toxicidad
- iv) Dosis terapéutica
- v) Límite de detección visual



### i. Dificultad para limpiar (experiencia de producción)

Se puede utilizar la experiencia de producción para indicar el producto más difícil de limpiar, el estudio se realiza en forma de entrevistas a los supervisores y/u operadores. La dificultad de limpieza podría clasificarse en tres categorías y asignando un valor numérico:

- a) Fácil = 1
- b) Media = 2
- c) Difícil = 3

Es importante mencionar que las opiniones del personal son subjetivas, por tanto en este criterio no existe un fundamento científico.

### ii. Solubilidad

La clasificación de solubilidad debe fundamentarse en las solubilidades de los principios activos en los disolventes usados para la limpieza. La clasificación se presenta a continuación:

<b>Grupo</b>	<b>Términos</b>	<b>Partes de disolvente en volumen requeridas para 1 parte de soluto</b>
1	Muy soluble	Menos de una parte
	Fácilmente soluble	De 1 a 10 partes
2	Soluble	De 11 a 30 partes
	Poco soluble	De 31 a 100 partes
	Ligeramente soluble	De 101 a 1 000 partes
3	Muy ligeramente soluble	De 1 001 a 10 000 partes
	Casi insoluble	Más de 10 000 partes

**TABLA 1.** Clasificación de principios activos por sus características de solubilidad. Referencia FEUM 9ª (Generalidades). Página 15

### iii. Toxicidad

Se debe incluir una evaluación y clasificación de la toxicidad de los principios activos y los disolventes utilizados, una posible clasificación numérica con fundamentos científicos es la siguiente:



Grupo	Términos	Partes de disolvente en volumen requeridas para 1 parte de soluto
1	Prácticamente no Tóxica	> 15 000
	Ligeramente Tóxica	5 000 – 15 000
2	Moderadamente Tóxica	500 – 5 000
3	Muy Tóxica	50 – 500
4	Demasiado Tóxica	5 – 50
5	Excesivamente Tóxica	< 50

**TABLA 2.** Clasificación de principios activos por sus características de Toxicidad. Casarett, Doulls; Toxicology – The Basic Science of Poison. 2ª edición 1980. Pág. 53

#### iv. Dosis terapéutica

Se debe realizar una investigación sobre la dosis terapéutica oral, en los casos donde no estén disponibles los valores, podrán utilizarse los valores basados en la toxicidad.

Grupo	Intervalo de dosis (dosis terapéutica mínima)
1	> 1 000 mg
2	100 – 1 000
3	10 – 99 mg
4	1 – 9 mg
5	< 1 mg

**TABLA 3.** Clasificación de principios activos por dosis terapéutica. <sup>21, 22.</sup>

#### v. Límite de detección visual

Estos criterios de aceptación para principios activos deben ser propuestos en procedimientos de la empresa; para la elaboración de la matriz de productos vs. equipo, se puede considerar la siguiente clasificación:



<b>Grupo</b>	<b>Términos</b>	<b>Fundamento</b>
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. <sup>21, 22.</sup>

#### **2.2.8.2 Selección de los sitios de muestreo**

Siguiendo con la evaluación, ésta comienza con la identificación de las superficies de contacto del producto con cada pieza del equipo, componentes auxiliares y utensilios, además del área de fabricación, los cuales pueden absorber producto o bien el agente de limpieza.

El siguiente paso a evaluar es determinar históricamente y/o anticipadamente las locaciones más difíciles de limpiar e identificar aquellas áreas donde se pueda acumular o retener producto.

El equipo y área de fabricación deben ser diseñados, construidos, localizados y mantenidos de tal manera 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 fabricación.
- d) Facilite una operación eficiente y debe ser aplicable, validada y confiable.



- e) Los equipos deben estar contruidos de tal forma que el montaje y desmontaje de sus partes sea práctico y sencillo, 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.

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 a la ubicación, área, diseño del equipo, y todo aquello que pueda contribuir a una contaminación cruzada.

### 2.2.9 MÉTODOS 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	DESCRIPCIÓN
Inspección visual	Cualitativo y subjetivo
Hisopos para muestreo y análisis de superficies	Cuantitativo
Muestreo y análisis de agua de enjuague	Cuantitativo (retira adherentes, área de la muestra definida).

**TABLA 5.** Técnicas de muestro más comunes en la validación de procesos de limpieza. <sup>2</sup>

La *Guide to inspections validation of Cleaning processes* de la FDA establece que: “existen 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 (método directo) puede remover contaminantes que pudieran adherirse a las superficies, incluso después del enjuague.

La técnica del hisopo involucra la humectación de un hisopo con agua purificada para limpiar un área medida de manera sistemática.<sup>2</sup>

**Muestreo con hisopo:** las muestras son tomadas al azar en un área definida que esté en contacto con el producto (comúnmente 25 cm<sup>2</sup>). 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 porque resulta costoso; en el caso del método de 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.

Las ventajas y desventajas de los métodos de muestreo más utilizados se presentan en la siguiente tabla:



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

**Tabla 6.** Técnicas de muestreo más comunes en la validación de procesos de limpieza.<sup>2, 21, 22.</sup>

### 2.2.10 MÉTODOS ANALÍTICOS

Son un punto clave en la validación de limpieza ya que con ellos se detecta y/o identifican los residuos. No existe una metodología única, sin embargo todas buscan establecer mediante estudios de laboratorio que un método proporcione datos confiables de acuerdo al propósito para el que se le emplea, es por eso que existe una estrecha relación entre los límites de residuo aceptados y el método de ensayo empleado para verificar la limpieza de áreas y equipos.



El método de análisis para estas muestras no necesita ser indicador de estabilidad, pero debe ser capaz de detectar el fármaco, los métodos analíticos de mayor uso son:

1. Cromatografía de Líquidos de Alta Resolución (HPLC).
2. Técnica de Carbono Orgánico Total (TOC).
3. Espectrofotometría UV.
4. Cromatografía en Capa Fina (TLC).
5. Potenciometría y Conductividad

### **1. Cromatografía de Líquidos Alta Resolución (HPLC).**

El HPLC es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.

En el HPLC el compuesto pasa por la columna cromatográfica a través de la fase estacionaria (normalmente, un cilindro con pequeñas partículas redondeadas con ciertas características químicas en su superficie) mediante el bombeo de líquido (fase móvil) a alta presión a través de la columna. La muestra a analizar es introducida en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan diferencialmente dependiendo de las interacciones químicas o físicas con la fase estacionaria a medida que adelantan por la columna. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil. El tiempo que tarda un compuesto en ser eluido de la columna se denomina tiempo de retención y se considera una propiedad característica de un compuesto en una determinada fase móvil y estacionaria. La utilización de presión en este tipo de cromatografías incrementa la velocidad lineal de los compuestos dentro la columna y reduce así su difusión dentro de la columna mejorando la resolución de la cromatografía. Los disolventes más utilizados son el agua, metanol y acetonitrilo.





El agua puede contener soluciones amortiguadoras, sales, o compuestos como el ácido trifluoroacético, que ayudan a la separación de los compuestos.

Para este método se usan adaptaciones de análisis de producto o métodos más sensitivos a una baja cantidad del material que probablemente esté presente después de la limpieza. El utilizar HPLC permite detectar pequeñas cantidades, sin embargo este método resulta muy costoso.

## **2. Técnica de Carbono Orgánico Total (TOC)**

Para determinar la cantidad de carbono orgánico, las moléculas orgánicas deben romperse en unidades de carbono simples y ser convertidas en una forma molecular sencilla que pueda medirse de forma cuantitativa. Los métodos de TOC utilizan calor y oxígeno, irradiación ultravioleta, oxidantes químicos, o combinaciones de dichos oxidantes para convertir el carbono orgánico en dióxido de carbono ( $\text{CO}_2$ ). El  $\text{CO}_2$  puede medirse directamente en un analizador infrarrojo no dispersivo, puede ser reducido a metano y medido con un detector de ionización de llama, o puede ser titulado.

Es un método relativamente nuevo, y es aplicable para un estudio de validación de limpieza, tiene un nivel de detección muy bajo lo que es útil para detectar residuos y otros contaminantes de aguas de enjuague, también es compatible con métodos de hisopo, es rápido y no es costoso.

## **3. Espectroscopía ultravioleta UV**

La espectroscopia ultravioleta–visible o espectrofotometría ultravioleta–visible (UV/VIS) es una espectroscopia de fotones y una espectrofotometría. Utiliza radiación electromagnética (luz) de las regiones visible, ultravioleta cercana (UV) e infrarroja cercana (NIR) del espectro electromagnético. La radiación absorbida por las moléculas desde esta región del espectro provoca transiciones electrónicas que pueden ser cuantificadas.



La espectroscopia UV-visible se utiliza para identificar algunos grupos funcionales de moléculas, y además, para determinar el contenido y fuerza de una sustancia. Se utiliza de manera general en la determinación cuantitativa de los componentes de soluciones de iones de metales de transición y compuestos orgánicos altamente conjugados. Se utiliza extensivamente en laboratorios de química y bioquímica para determinar pequeñas cantidades de cierta sustancia, como las trazas de metales en aleaciones o la concentración de cierto medicamento que puede llegar a ciertas partes del cuerpo.

Facilita la evaluación de varios tipos de residuos en un solo ensayo, estos análisis son cambios razonablemente rápidos para establecer la presencia de diversos materiales orgánicos. Por esta técnica es posible establecer algún grado de cuantificación y correlación a ensayos residuales.

#### **4. Cromatografía en Capa Fina (TLC)**

La cromatografía se define como la separación de una mezcla de dos o más compuestos por distribución entre dos fases, una de las cuales es estacionaria y la otra una fase móvil. Varios tipos de cromatografía son posibles, dependiendo de la naturaleza de las dos fases involucradas: sólido-líquido (capa fina, papel o columna), líquido-líquido y gases-líquido (fase vapor). Todas las técnicas cromatográficas dependen de la distribución de los componentes de la mezcla entre dos fases inmiscibles: una fase móvil, llamada también activa, que transporta las sustancias que se separan y que progresa en relación con la otra, denominada fase estacionaria. La fase móvil puede ser un líquido o un gas y la estacionaria puede ser un sólido o un líquido. Todos los sólidos finamente pulverizados tienen el poder de adsorber en mayor o menor grado otras sustancias sobre su superficie; y, similarmente, todas las sustancias pueden ser adsorbidas, unas con más facilidad que otras. Este fenómeno de adsorción selectiva es el principio fundamental de la cromatografía.



La cromatografía en capa fina o película fina, o más comúnmente TLC (thin-layer chromatography, en inglés), en este caso se utiliza una placa recubierta con fase estacionaria manteniendo un pequeño espesor constante a lo largo de la placa. El eluyente ascenderá, por capilaridad, por la placa y arrastrará los componentes a lo largo de ésta produciendo “manchas” de los componentes. Se usan láminas de: vidrio como soporte del adsorbente, plástico (ej: acetato) ó metálicos (ej: aluminio).

Los eluyentes más comunes para cromatografía en capa fina se mencionan a continuación: éter de petróleo, tolueno, dietil-éter, t-butil-éter, diclorometano, acetato de etilo, n-pentano, n-hexano, ciclohexano, tetracloruro de carbono, éter dietílico, cloroformo, acetona, iso-propanol, etanol, metanol y ácido acético. Y los adsorbentes más utilizados son: silica gel (se utiliza en el 80% de las separaciones), óxido de aluminio ó alúmina (ácida, neutra ó básica), celulosa (Nativa o micro-cristalina), poliamidas. Para la selección del adsorbente se deben de tomar las siguientes consideraciones: polaridad, tamaño de partícula, diámetro, área superficial, homogeneidad y pureza.

Hay placas que contienen un indicador de fluorescencia, para facilitar la identificación de las muestras. Si no se usa indicador y los componentes no son coloridos se requerirán técnicas de revelado como:

- Luz UV: si la sustancia absorbe luz ultravioleta, se puede usar una fase estacionaria impregnada con un indicador fluorescente.
- La introducción de la placa en vapores de yodo.
- El rocío con una solución de agua/H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1:1 (dentro de un compartimiento especialmente protegido y bajo una campana de extracción de gases).

## 5. Potenciometría y Conductividad

Análisis de pH y conductividad se emplean para la confirmación de agentes de limpieza. La única desventaja de este método es que sólo se deben usar muestras solubles en agua.



Cualquiera que sea el método analítico seleccionado para análisis de residuos este se debe validar antes de proceder al análisis de muestra.

#### 2.2.10.1 Parámetros de una validación del método analítico

La guía general para validar un método analítico involucra los siguientes parámetros <sup>9, 23</sup>:

- a) **Especificidad:** es la capacidad de un método analítico para obtener una respuesta exacta y específica de la sustancia de interés y no de otros componentes que pueden estar presentes en el material analizado, tales como productos de degradación, excipientes u otros productos.
- b) **Límite de detección:** mínima concentración de una sustancia en una muestra, la cual puede ser detectada, bajo condiciones de operación establecidas, pero no necesariamente cuantificada.
- c) **Límite de cuantificación:** mínima concentración de una sustancia en una muestra que puede ser cuantificable con precisión y exactitud, utilizando las mismas condiciones de operación.
- d) **Precisión del sistema:** grado de concordancia entre resultados analíticos individuales cuando el procedimiento se aplica repetidamente a diferentes muestras. Capacidad del método analítico para cuantificar la misma cantidad de la sustancia a analizar con la mínima variación posible cuando se analiza varias veces bajo las mismas condiciones normales de operación.
- e) **Linealidad del Sistema:** habilidad para asegurar que los resultados analíticos que pueden ser obtenidos directamente o por medio de una transformación matemática definida, son proporcionales a la concentración de la sustancia de interés dentro de un intervalo de concentraciones.



- f) **Exactitud del método:** concordancia entre un valor obtenido experimentalmente y el valor de referencia. Se expresa como el porcentaje de recobro obtenido del análisis de muestras a las que se les ha adicionado cantidades de la sustancia.
- g) **Linealidad del método:** habilidad para asegurar que los resultados analíticos son proporcionales a la concentración de la sustancia, a partir de placebos cargados cuyas concentraciones deben de ser adecuadas para que, utilizando el método propuesto las concentraciones finales a analizar estén dentro del intervalo de la linealidad del sistema.
- h) **Repetibilidad del método:** capacidad del método analítico para cuantificar la misma cantidad de la sustancia a analizar con la mínima variación posible cuando se analiza la muestra varias veces, por diferentes analistas y en días diferentes, en el mismo o diferente laboratorio, utilizando el mismo o diferente equipo.
- i) **Estabilidad de la muestra:** propiedad de la muestra preparada para su cuantificación, de conservar su integridad fisicoquímica y la concentración de la sustancia de interés, después de almacenarse durante un tiempo determinado bajo condiciones específicas.
- j) **Tolerancia:** grado de reproducibilidad de los resultados analíticos obtenidos por el análisis de la misma muestra bajo modificaciones controladas de las condiciones normales de operación, tales como diferente temperatura, lotes de reactivos, columnas, sistemas de elución, tipos de empaque, condiciones ambientales, estabilidad de la muestra analítica.



## 2.2.11 ESTABLECIMIENTO DE LOS CRITERIOS DE LIMPIEZA

*La Guide to inspections validation of Cleaning processes* de la FDA solo establece que el límite de residuo debe ser:

- Lógico
- Práctico
- Alcanzable
- Verificable
- Científicamente justificado

Lógico basado en una comprensión del proceso; práctico en el sentido que debe ser el apropiado para la situación actual de limpieza a ser validada; verificable por alguna técnica analítica de detección; alcanzable por el procedimiento de limpieza y lo más importante que las industrias desarrollen un argumento científicamente racional para el límite elegido.<sup>12</sup>

La FDA en *la Guide to inspections validation of Cleaning processes* cita los trabajos realizados por *Fourman y Mullen* en la compañía farmacéutica *Elli Lilly*,<sup>11</sup> como criterios de referencia propuestos para la determinación del límite:

- Ninguna cantidad de residuo debe estar visible en el equipo después que se ejecuten los procedimientos de limpieza.
- Cualquier agente activo podría estar presente en el producto subsecuente hasta un nivel máximo de 10 ppm.
- Cualquier agente activo estará presente en el producto subsecuente a un nivel máximo de 1/1 000 de la dosis mínima diaria del agente activo en una dosis máxima diaria del producto siguiente.

Estos criterios para el establecimiento del límite de residuo, aunque no están oficialmente establecidos por la FDA, han sido usados ampliamente dentro de la Industria Farmacéutica para la determinación de niveles aceptables de residuos químicos.<sup>13, 14, 15.</sup>



Pero en el establecimiento de los límites residuales, no es correcto centrarse solo en el ingrediente activo, también es importante seleccionar los niveles de aceptación para residuos potenciales como excipientes, productos de degradación, agentes de limpieza, microorganismos y endotoxinas.<sup>16,17</sup> Los niveles de residuo serán determinados según el potencial farmacológico, seguridad, toxicidad, estabilidad y efectos de contaminación sobre el próximo producto.<sup>16</sup> También para estimar los límites aceptables de residuo se debe tener en cuenta la vía de administración del producto, si se trata de un principio activo o un producto terminado, el límite de detección de la técnica analítica, el proceso de fabricación y la capacidad del procedimiento de limpieza.<sup>12</sup>

### **Límite basado en la dosis del residuo**

Se basa en la consideración de una cantidad permisible de residuo que luego del proceso de limpieza puede estar presente en el producto terminado que va a ser elaborado en el mismo equipo sin experimentar efectos adversos en la salud.<sup>11,12</sup> El límite aceptable de residuo (LAR) desde esta concepción se calcula como la relación entre la dosis mínima diaria del ingrediente activo A elaborado (DDMinA) y la dosis máxima diaria del próximo producto B a elaborarse subsecuentemente (DDMaxprodB) multiplicado por un factor de seguridad (FS) y por el tamaño del lote del próximo producto B (TLprodB) (ecuación 1).<sup>11, 12.</sup>

$$\text{LAR (ppm)} = \text{FS} \times \frac{\text{DDMinA}}{\text{DDMaxprodB}} \times \text{TLprodB} \quad (1)$$

Cuando se desconoce el producto siguiente a elaborar, se escoge para el cálculo la mayor de las dosis diarias y el menor tamaño del lote entre todos los posibles productos a elaborarse después de A.

El factor de seguridad se usa como un extra que provee protección, ya que el valor obtenido de los cálculos teniendo en cuenta este criterio es considerado como un valor seguro. Existen diferentes factores de seguridad en dependencia de la vía de administración (tabla).<sup>9, 12.</sup>



VÍA DE ADMINISTRACIÓN	FACTOR DE SEGURIDAD (FS)
Parenteral, oftalmológica	0,0001
Oral	0,001
Tópica	0,01

**Tabla 7.** Factores de seguridad según vía de administración. LeBlanc DA. Establishing Scientifically Justified Acceptance Criteria for Cleaning Validation of Finished drug Products. Pharm. Technol. 1998; 22(10):136–48.

El uso de un factor de seguridad inferior al estipulado para una vía de administración, por ejemplo, el uso de un factor de seguridad menor que 0,001 para tabletas orales, requiere una fuerte justificación. Sin embargo, diferentes factores de seguridad pueden ser apropiados si son aplicados a otros tipos de dosis a la dosis diaria mínima farmacológica.<sup>9</sup> Desde el punto de vista científico no existe objeción si se escoge un factor de seguridad menor que 0,001 o si se usan otros parámetros que la dosis mínima diaria. Sin embargo, una selección arbitraria de un criterio más restringido reduciría el valor del límite de residuo, lo que puede resultar una limpieza no razonable y reducir la disponibilidad de un método de análisis con un límite de detección suficientemente bajo.<sup>9, 11.</sup>

### **Límite de residuo en la muestra de análisis**

Los análisis referentes al límite de residuo asimila la propuesta de cálculo del límite aceptable del residuo (LAR) de limpieza de *Fourman* y *Mullen* anteriormente expuesta, se incluyen nuevos elementos en la fórmula para obtener un límite más verdadero y más adecuado al proceso de contaminación, limpieza y control del residuo. Al LAR, *LeBlanc* lo denomina límite en la muestra analítica ensayada, pues el procedimiento analítico mide el principio activo en disolución, como un resultado del hisopado y desorción del hisopo dentro de un disolvente adecuado, o por enjuague y la medición del principio activo dentro del disolvente de enjuague.<sup>3</sup>





Este límite como veremos está formado por la contribución de otros límites de residuos como: límite de aceptación en el próximo producto, límite de aceptación sobre la superficie de contaminación del equipo y límite de aceptación en la muestra analizada (ecuaciones 2, 3 y 4).<sup>9, 11</sup>.

$$L1(\text{ppm}) = FS \times \frac{DD\text{Min}A}{DD\text{Max}B} \times 10^{-6} \quad (2)$$

$$L2 (\text{g}/\text{cm}^2) = L1 \times \frac{TL\text{prod}B}{ACE} \times 1000 \quad (3)$$

$$LAR \text{ o } L3 (\text{ppm}) = L2 \times \frac{ASM}{CDD} \quad (4)$$

Donde:

**L1:** límite de aceptación en el producto subsecuente, o sea, es el límite del agente activo, A, en el producto subsecuente, B. Se expresa por el producto del factor de seguridad (FS) con la relación de la dosis mínima diaria del ingrediente activo A elaborado (DDMinA) y la dosis máxima diaria del próximo producto B a elaborarse (DDMaxprodB).<sup>9,11</sup>

**L2:** límite por área de superficie, depende del límite en el producto siguiente expresado en ppm (L1), del tamaño del lote en kilogramo del producto subsecuente B (TLprodB) y del área total de superficie compartida del equipo en centímetro cuadrado (ACE). Se expresa en microgramo por centímetro cuadrado y 1 000 es un factor de conversión de kilogramo a gramo. En este cálculo se asume que toda la contaminación está distribuida uniformemente por toda la superficie del equipo.<sup>9, 11</sup>.

**L3:** es el límite de residuo (en microgramo por gramo o microgramo por milímetro) para la muestra analítica. Se debe conocer el límite de residuo por área de superficie (L2), la superficie de área muestreada con el hisopo en centímetro cuadrado y la cantidad en milímetro del disolvente de desorción del residuo del hisopo.



Para el muestreo por hisopado se asume que un área fija de la superficie del equipo es muestreada (ASM) y el hisopo se desorbe sobre una cantidad constante de disolvente (CDD). Para el muestreo por enjuague se trabaja con el área total de la superficie del equipo y el volumen de agua de enjuague.<sup>10</sup>

Por lo general  $L1 < L2 < L3$ , ya que L3 refleja el residuo en un pequeño volumen de muestra analizada.

La expresión completa está descrita por la ecuación 5.

$$LAR \text{ ó } L3 \text{ (g/mL)} = \frac{FS \times DD_{\text{MinA}} \times TL_{\text{prodB}} \times ASM \times 10^{-6}}{DD_{\text{MaxB}} \times ACE \times CDD} \quad (5)$$

Esta concepción para el cálculo del límite aceptable de residuo es válida para cuando todos los componentes de un fármaco se procesan en un mismo equipo que posteriormente se utilizará para otro producto farmacéutico. Muchas veces la producción se concibe de forma tal que en un mismo equipo solo se procesan los ingredientes activos para luego realizar la mezcla con los excipientes en otro equipo. En estas situaciones el nivel permisible de contaminación hay que evaluarlo considerando solamente el residuo del ingrediente activo A, que permanecerá luego de la limpieza en el ingrediente activo B a procesarse en un equipo común.

De esta forma el nivel de cualquier residuo presente en el posterior ingrediente activo farmacéutico puede ser evaluado indirectamente a partir del efecto del residuo en el producto terminado en que se incorporará dicho ingrediente activo. Para estos casos las fórmulas se modifican de la manera que muestran las ecuaciones 6, 7, 8, 9, 10 y 11.<sup>16</sup>



$$L1 \text{ (ppm)} = FS \times \frac{DDMinp.a.A}{DDMaxprodB} \times 10^{-6} \quad (6)$$

$$L2 \text{ (ppm)} = L1 \times \frac{100\%}{\% \text{ p.a.AenprodB}} \quad (7)$$

$$L3 \text{ (g/cm}^2\text{)} = L2 \times \frac{TLp.a.B}{ACE} \times 1000 \quad (8)$$

$$LAR \text{ ó } L4 \text{ (g/mL)} = L3 \times \frac{ASM}{CDD} \quad (9)$$

$$DDMaxp.a.B = DDmaxprodB \times \% \text{ p.a.AenprodB} \quad (10)$$

$$LAR \text{ ó } L4 = FS \times \frac{DDMinp.a.A \times TLp.a.B \times ASM \times 10^{-6}}{DDMaxp.a.B \times ACE \times CDD} \quad (11)$$

Donde:

**L1:** límite de residuo de principio activo A (p.a.A) en cualquier producto terminado B por producir.

**L2:** límite de residuo de principio activo A en cualquier principio activo B (p.A.B) elaborado con posterioridad y que formará parte del producto terminado B.

**L3:** límite de residuo por área de superficie compartida en el equipo.

**L4:** es el límite de residuo en la muestra analizada.

Obsérvese como en este caso para lograr valorar el efecto de la contaminación del principio activo que fue limpiado en el producto terminado subsecuente se ha hecho considerando el efecto del ingrediente activo A en el ingrediente activo B y la posterior incorporación de este último al producto terminado B. Por eso se habla en la ecuación de dosis diaria máxima del principio activo B y tamaño del lote del principio activo B.



## Límite basado en la toxicidad del residuo

El uso de la dosis terapéutica o dosis farmacológica como base para el cálculo del límite de residuo es útil para situaciones donde el material es un ingrediente activo con niveles de dosis terapéuticas conocidas.<sup>12, 18</sup> Existen casos donde no se cuenta con la dosis del residuo como, por ejemplo, en la producción de medicamentos en fase de investigación donde todavía la dosis del principio activo o el producto terminado no ha sido completamente establecida. También existen los residuos que no tienen dosis como los productos de degradación, los excipientes y los agentes de limpieza. En estas situaciones el establecimiento del límite aceptable de residuo puede estar basado en el consumo aceptable diario (Acceptable Daily Intake, ADI por sus siglas en inglés) el cual tiene en cuenta el efecto tóxico de la sustancia en el cuerpo.<sup>12, 17, 18.</sup>

El ADI puede calcularse directamente a través de la expresión:<sup>17, 18.</sup>

$$\text{ADI (mg/día)} = \text{LD}_{50} \text{ (mg/kg)} \times w \text{ (kg)} \times F$$

Donde:

**w:** peso del cuerpo humano.

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

**FC:** factor de conversión determinado empíricamente a partir de modelos con animales desarrollado por *Layton* y otros.<sup>21</sup>

Una forma más indirecta de calcular el ADI es calculando primero el nivel no observado del efecto (no observable effect level, NOEL por sus siglas en inglés):<sup>12, 18.</sup>

$$\text{NOEL} = \text{LD}_{50} \times \text{FC} \text{ y } \text{ADI} = \text{NOEL} \times w \times \text{FS}$$



Una vez estimado el ADI, éste es sustituido por el producto del factor de seguridad y por la dosis mínima diaria del residuo en la ecuación para calcular el límite aceptable de residuo en la muestra de análisis (ecuación 12).

$$\text{LAR ó L3} = \frac{\text{ADI} \times \text{TLprodB} \times \text{ASM} \times 10^6}{\text{DDMaxprodB} \times \text{ACE} \times \text{CDD}} \quad (12)$$

De la ecuación anterior se nota que el ADI reemplaza a la DDMin del residuo blanco reducida por el factor de seguridad, ya que al definir el ADI se incluye un factor de seguridad, por eso no son necesarios factores adicionales.<sup>12, 17, 18.</sup>

El límite basado en la toxicidad del residuo aunque no es el único método para calcular el límite de residuo cuando no existe una dosis para este, es el más generalizado.<sup>17</sup>

### **Límite por defecto**

Se conoce como límite por defecto al valor de 10 ppm que se recoge en el segundo criterio de referencia que aparece propuesto por la FDA en la *Guide to inspections validation of Cleaning processes*. Se trata de un límite muy referido que puede utilizarse cuando aún no se han establecido otros criterios más adecuados para controlar el residuo.<sup>9, 16.</sup>

El valor de 10 ppm considerado como límite por defecto es también en cierto sentido un máximo aceptable de límite residual en el caso que el límite calculado basado en la dosis estándar L1 (0,001 de la dosis mínima del principio activo en la dosis máxima del próximo producto) sea superior a este valor de 10 ppm.<sup>9, 16.</sup>



## Límite basado en la limpieza visual

La inspección visual es un método de detección legítimo si se utiliza bajo las circunstancias correctas. Se trata de un método de detección inmediato y de bajo costo, tanto para las aplicaciones de rutina como el monitoreo, y las extraordinarias como puede ser la validación de la limpieza.<sup>22</sup> El objetivo de la limpieza visual es significativo, si una superficie está visualmente sucia, entonces los procedimientos de limpieza no son aceptables o están fuera de control.<sup>9</sup> Cuando se consideran una serie de circunstancias la detección visual se convierte en una herramienta poderosa de control. Estas circunstancias a tener en cuenta son: la potencia del residuo, el establecimiento de la cantidad de residuo que puede detectarse, la selección de las superficies apropiadas, el entrenamiento del personal de inspección, la definición de las condiciones de la inspección visual y la identificación de las etapas de los procesos más convenientes para este tipo de control.

Las condiciones de la inspección necesitan ser bien determinadas (iluminación, ángulo, distancia de observación, etc.) y se requieren inspectores entrenados que puedan distinguir entre 1 y 4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  de residuo sobre una superficie de acero inoxidable. Es importante también que la superficie a inspeccionar esté visible, no sea porosa y preferiblemente sea de un color contrastante al del residuo que está siendo inspeccionado; cuando se decida que la limpieza visual es el criterio se deberán incluir imágenes.<sup>22</sup>

El más alto nivel al cual la comisión de expertos considere que está visiblemente limpio se aceptará como el nivel permisible para la limpieza de ese residuo particular.<sup>9, 11</sup> Generalmente la línea divisoria entre limpieza visual y suciedad visual es considerada en el rango de 4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .<sup>9, 11</sup> Si se calcula el límite de residuo por área de superficie L2 y se encuentra un valor significativamente mayor que 4  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  o que el valor de límite visual determinado empíricamente, se podría asumir la limpieza visual como el único criterio de aceptación.



### **Límite basado en la sensibilidad del método analítico de determinación del residuo**

En este enfoque el límite de residuo de limpieza es el límite de detección del método analítico. Considerando que el límite analítico es muy inferior al del límite de residuo, este puede ser un enfoque viable en los casos donde el peligro de contaminación y sus consecuencias son de naturaleza crítica. Sin embargo, para la mayoría de las situaciones de limpieza una limpieza extrema no está justificada. El costo de una limpieza extrema puede superar el costo de un producto por lo que sería ilógico y poco práctico. La decisión de considerar el límite de detección del método analítico como el límite de residuo de limpieza es puramente de la empresa, el cual debe evaluar factores como la naturaleza del producto y uso del otro producto a elaborar posteriormente.<sup>12</sup>

### **Límite basado en la capacidad del proceso de limpieza**

El establecimiento del límite de residuo como el límite de capacidad del proceso de limpieza tiene lugar cuando se dispone de suficientes resultados del control del procedimiento de limpieza dentro de un intervalo inferior al valor calculado del límite.

Un proceso de limpieza validado con suficientes resultados analíticos de muestras de limpieza puede ser una herramienta útil para el monitoreo de rutina, pues en dependencia de los valores se puede escoger un rango de alerta y otro para tomar medidas dentro del proceso.



## 2.2.12 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, es importante que el equipo esté seco antes de almacenarse y por ningún motivo se debe permitir la presencia de agua estancada en el equipo antes de empezar a fabricar otro producto.

Es necesario asegurarse que los procedimientos de sanitización proporcionen un control adecuado de la biocarga; y al evaluar un procedimiento de limpieza es necesario tomar las precauciones necesarias para evitar problemas asociados con la contaminación microbiológica.

Una de ellas es la evaluación microbiana del agua purificada y/o destilada utilizada en el enjuague del equipo. También se pueden tomar muestras del equipo utilizando hisopos de alginato o placas con agar. En todos los casos se evalúa la presencia de *Staphylococcus*, *Pseudomonas*, enterobacterias, hongos y levaduras y la cuenta total de mesófilos aerobios.<sup>8</sup>





### 3. DISCUSIÓN

La limpieza es un proceso y su resultado es limpio. Visto como un proceso, los insumos son agua, equipos, utensilios, instrumentos limpios, áreas de fabricación, personal calificado, agentes de limpieza y todos deben estar calificados y/o validados.

La validación de limpieza es requerida: para toda superficie que queda en contacto con el producto; después de un cambio de producto; entre lotes de producto por campaña; durante la evaluación de seguimiento y por último para el caso de las revalidaciones aplicables.

Los métodos de limpieza adecuados y los materiales dependerán de la naturaleza del producto. Se valida a intervalos entre el uso del equipo y su limpieza, así como entre la limpieza y la reutilización del equipo, así como considerar las partes que no entran en contacto directo con el producto.

La validación de limpieza incluye la identificación y caracterización de residuos de: principio activos, excipientes, sistema de conservadores, agentes de limpieza y sanitización, productos de degradación, residuos de descomposición, lubricantes y otros materiales, partículas transportadas por el aire y microorganismos (bacterias, hongos, pirógenos).

La validación de limpieza requiere **seleccionar y validar**: procedimientos de Limpieza, métodos de muestreo, métodos analíticos para los residuos, seleccionar criterios para calcular los límites e instrucciones de proceso para fabricación del producto específico.

El enfoque del proceso de validación de limpieza debe:

- Centrarse en confirmar la efectividad de los procedimientos de limpieza.
- Evaluar cada situación de acuerdo con sus situaciones específicas y sus contaminantes objetables.
- Comprobar la reproducibilidad y la consistencia del proceso, con datos que apoyen al objetivo y a la conclusión.
- Reducir el uso de diferentes Métodos de Limpieza.



Una de las nuevas tendencias en los procesos y en este caso en el de validación de limpieza es el Análisis de Riesgos, y esto se refiere a la validación enfocada en aquellas situaciones o etapas del proceso, donde la contaminación o arrastre de materiales y de la sustancia activa pueda suponer el mayor riesgo para la calidad del producto.

El hecho de que se trabaje con el criterio del “peor caso”, es porque con ello se está retando al proceso para demostrar que el residuo en prueba, puede recuperarse en una cantidad suficiente o puede ser removido al nivel que es requerido. Su selección debe basarse en una combinación de: potencia, toxicidad, solubilidad, estabilidad y dificultad de limpieza. El primer criterio para seleccionar el “peor caso” es formar grupos o familias según:

1. Las características de formulación de los productos:

- Grupos de productos con excipientes similares en su formulación y la solubilidad de sus activos.
- De éstos, elegir el producto cuyo activo tenga la menor solubilidad y para ser representativo del “peor caso”.

2. El uso de los equipos:

- Dedicado
- Multipropósito

Considerando solamente un procedimiento escrito para cada equipo.

3. El método de limpieza: un grupo de equipos que usan un procedimiento escrito de limpieza en común.

4. El medio donde se disuelve el agente de limpieza: medio acuoso, orgánico, etc.

Ahora bien en cuanto a los agentes de limpieza y sanitización, es muy importante considerar: la capacidad del agente para remover residuos, deja o no residuos, compatibilidad con los materiales con los materiales de construcción de áreas, equipos y utensilios; definir los tipos y el número de ciclos a usar y su secuencia, constituyendo así el proceso final de limpieza.



### Agentes de Limpieza y Sanitización:

- Límites generalmente basados en criterios químicos, expresados por:
- La máxima concentración en el próximo producto ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).
- Cantidad por superficie de área ( $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).
- Cantidad en la muestra de hisopado ( $\mu\text{g}$  ó  $\mu\text{g}/\text{mL}$ )
- Acarreamiento máximo en el Tren (mg ó g).
- Concentración en el agua de enjuague equilibrada ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ ).

Solo se deben utilizar agentes de limpieza compatibles, científicamente justificados y basado en: la solubilidad de los materiales a ser removidos, el diseño y la construcción de los equipos y los materiales de las superficies a ser limpiadas; la seguridad del agente de limpieza, lo fácil o difícil de la remoción y la detección; las características del producto; la temperatura mínima y el volumen del agente de limpieza y la solución de enjuague; y se deben de tomar en cuenta siempre las recomendaciones del fabricante.

Como se trata de retar el proceso un punto crucial también será la selección de los puntos a monitorear, 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 (acrílico, cristal, goma, plástico), 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.

Se debe considerar en la participación de selección de los puntos de muestreo, a los operadores, ya que al realizar ellos la limpieza de las áreas y equipos, saben cuales son los puntos o que partes en donde se acumula el producto o las más difíciles de limpiar, por lo que se sugiere realizar una entrevista con un formato establecido.



Los avances de la validación de limpieza se encuentran enfocados a los criterios de aceptación, sin embargo, las autoridades sanitarias no fijan los criterios de aceptación o métodos para determinar, si un proceso de limpieza está validado, éstos se basan en enfoques experimentales demostrables:

- Determinar mediante razonamiento científico “qué tan limpio es suficiente”.
- Asumir siempre el “peor caso” al realizar los cálculos.
- Asegurar que la base de cualquier límite es científicamente justificable.

Estos criterios deben de ser:

- Realistas (basado en la comprensión del proceso).
- Prácticos (apropiado a la limpieza a ser validada).
- Alcanzables (por el procedimiento de limpieza).
- Verificables (por alguna técnica analítica de detección-cuantificación).
- Científicamente justificado.

Los límites pueden ser:

1. Específicos para el producto.
2. Agrupado en familias de productos: todos aquellos productos que contienen múltiples ingredientes y un ingrediente común a bajo nivel, y elegir el producto del “peor caso”.
3. Selección de grupos de riesgo similares: productos muy solubles, potencialmente similares, altamente tóxicos o productos difíciles de detectar.
4. Diferentes factores de seguridad para diferentes formas de dosificación, basados en la respuesta fisiológica: métodos para materiales potentes.

Los métodos más utilizados para determinar Límites de aceptación son:

- Factor de Riesgo.
- Aceptación Visual.
- $LAR \cdot A$  0.001 de la Dosis Mínima de  $A$ .
- $LARX$  del Residuo  $X$ .
- Máximo 10 ppm de Activo de  $A$  en  $B$ .



Para establecer los criterios de aceptación de la limpieza, se debe tomar en cuenta primeramente saber la actividad farmacológica del producto; segundo, conocer su toxicidad; tercero contar con la detección del método analítico, y finalmente establecer el criterio de visualmente limpio que es realizado después de la limpieza.

Los criterios no tienen que ser los mismos. Pueden existir criterios para superficies y otros para áreas, basado en el análisis de riesgos. Hay muchos factores que se deben evaluar dependiendo de la contaminación, las áreas, los equipos, el personal, entre muchos otros para poder establecer un procedimiento de limpieza adecuado.

Es necesario establecer límites de aceptación basados en conocimientos científicos, desarrollar métodos para la toma de muestras, validación de métodos analíticos, desarrollar instrumentos para el seguimiento, y muchas otras acciones necesarias para hacer frente a las adversidades encontradas.

En cuanto a los criterios de contaminación biológica, el establecimiento del límite de residuo para está es más difícil; no existe una guía clara para la contaminación microbiológica del equipo. Por ello en el documento guía de la FDA para la validación del proceso de limpieza se aclara explícitamente que el mismo es aplicable solamente a residuos químicos.

Para establecer un límite de contaminación microbiológica se debe tomar en cuenta la vía de administración del producto farmacéutico y la naturaleza o tipo de microorganismo contaminante (bacterias y/u hongos). Productos parenterales y oftalmológicos deben tener un control más estricto para el límite de microorganismos.



## 4. CONCLUSIONES

La validación de limpieza provee el significado de probar que los niveles de contaminación han sido reducidos por debajo de los límites de aceptación establecidos. La limpieza en áreas, equipos y personal nos permitirán asegurar la calidad de los productos, así como a mantener la imagen de la compañía.

Las actividades de validación de limpieza deberían cubrir la identificación del residuo activo, la selección del método de detección del residuo activo, la selección del método de muestreo, establecer el criterio de aceptación para el residuo, validación del método, los estudios de recuperación y la identificación de las partes del equipo en contacto directo con el producto.

La buena preparación y una apropiada implementación de las herramientas de la validación de limpieza (matrices y tablas) es un factor determinante para el éxito del programa de validación de limpieza.

Establecer correctamente el límite de residuo de limpieza con respecto al cual se realizará la validación de los procedimientos de limpieza de equipos, garantizará que el nivel de contaminación aceptable sea verdaderamente el adecuado, proporcionando calidad y seguridad al producto farmacéutico elaborado. Para ello se brindan algunas reglas generales a tener en cuenta para elegir el límite de residuo en dependencia de cada situación práctica.



## 5. BIBLIOGRAFÍA

1. Norma Oficial Mexicana, NOM-059-SSA1-2006. "Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica Dedicados a la Fabricación de Medicamentos. Diario Oficial (México, Distrito Federal 22 Diciembre 2008).
2. Code of Federal. "Current Good Manufacturing Practice Regulations". Code of Federal, Title 21 Food and Drugs (General Services Administration. Washington, D.C., 1 April 1973). Part 211.67
3. Dixon Anne Marie. "Validation of Pharmaceutical Process, Sterile Products". 2nd Ed, edited by F.J. Carleton and J.P. Agalloco, 319–349.
4. CIPAM. "Guía de Procesos de Limpieza y su Validación en áreas de fabricación". México, 1999.
5. Triste Juan Silvia, "Proceso de desinfección". Curso, 2003.
6. Altamirano Ávila Lidia. "Validación de sanitizantes utilizados en el proceso estándar de operación de limpieza y sanitización". 2002. Pág. 47
7. Aulton Michael E. "Farmacia: Ciencia y diseño de formas farmacéuticas". España, Editorial Elsevier. Segunda edición, 2004. Págs. 681.
8. Zeller OA. "Cleaning Validation and Residue Limits: A contribution to current discussions". Pharma Technol Eur. 1993; November, 18-27.
9. Active Pharmaceutical Ingredients Committee (APIC). "Cleaning on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants". December 2002.
10. Versión electrónica del boletín informativo de JencK S.A. "Validación de Limpieza en Equipos de Producción en la Industria Farmacéutica". Octubre 2000. Referencia electrónica: [http://www.Innovacion\\_Oct\\_2000\\_validacion\\_de\\_limpieza](http://www.Innovacion_Oct_2000_validacion_de_limpieza)
11. Agalloco PJ. "Cleaning procedures. Points to consider in Validation of Equipment". J Parent Sci Technology. 1992; 46(5):163-8.
12. Forayth RJ. Haynes DV. "Cleaning Validations in a Pharmaceutical Research Facility". Pharm Technol. 1998;22(9):104-12.



13. LeBlanc DA. "Establishing Scientifically Justified Acceptance Criteria for Cleaning Validation of Finished drug Products". Pharm Technol. 1998; 22(10):136-48.
14. Shifflet MJ, Shapiro M. "Development of Analytical Methods to Accurately and Precisely Determine Residual Active Pharmaceutical Ingredients and Cleaning Agents on Pharmaceutical Surfaces". Referencia electrónica: [http://www.americanpharmaceuticalreview.com/current\\_issue/2\\_april\\_2002/Shifflet\\_article.html](http://www.americanpharmaceuticalreview.com/current_issue/2_april_2002/Shifflet_article.html)
15. Fourman GL, Mullen MV. "Determining Cleaning Validation Acceptance Limits for Pharmaceutical Manufacturing Operations". Pharm Technol. 1993;17(4):54-60.
16. Agalloco PJ. "Points to consider for cleaning validation". PDA Techn Rep. 1998; March 30(29).
17. Brewer R. "Regulatory Aspects of Cleaning Validation". Presented at ISPE Seminar. Rockville. Maryland. 1996 March; 6-8.
18. PDA Biotechnology Cleaning Validation Subcommittee. "Cleaning and Cleaning Validation: A Biotechnology Perspective". Bethesda. MD. 1996.
19. Vitale M. "Cleaning Validation Acceptance Criteria". Presented at the 15 th Annual Pharm Tech Conference 95. East Brunswick , New Jersey . September, 1995. p. 18-21.
20. LeBlanc DA. "Establishing Scientifically justified acceptance Criteria for the cleaning Validation of APIS". Pharm Technol. 2000; 24(october): 160-8.
21. LeBlanc DA. "Setting "Dose" Limits without Dosing Information". Cleaning Memo for May 2001. Cleaning Validation Technologies Technical Consulting Services. Referencia electrónica: <http://www.cleaningvalidation.com/cleaningMemos/May%202001.html>.
22. LeBlanc AD. "Issues in Limits for Formulated Cleaning Agents". Clearing Memo for August 2005. Cleaning Validation Technologies. Technical Consulting Services. Referencia electrónica: <http://www.cleaningvalidation.com/cleaningMemos/Auguts%202005.asp>.
23. Zayas Zayas Luis, "Validación de limpieza". Informacéutico. 10 (2). Pág. 39-43 (2003)
24. Bioclener Enterprise, S.A. de C.V. Referencia electrónica [www.buckeye.com](http://www.buckeye.com)





25. D. Fernando Amaral. “Desafios para la validación de métodos de limpieza aplicados en la industria farmacéutica”. *Enfarma*. Volumen 9, No. 4. Págs. 56 – 60. (2008).
26. Bolaños A. Lino Alberto. “Tópicos sobre la Limpieza y Validación de Limpieza”. *Enfarma*. Volumen 9, No. 3. Pág. 40–42. (2008).
27. Redmond A, Roche J. “Cleaning Validation, How clean is clean?” Athlone Institute of Technology. Referencia electrónica: <http://www.irishscientist.ie/p98b.htm>.