

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR  
FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA



PROPUESTA DE GUIA TECNICA PARA LA VALIDACION DE METODOS DE  
LIMPIEZA DE EQUIPOS UTILIZADOS EN LA FABRICACION DE FORMAS  
FARMACEUTICAS LIQUIDAS ORALES NO ESTERILES

TRABAJO DE GRADUACION PRESENTADO POR:  
MAYRA JEANNETTE ASCENCIO CRUZ

PARA OPTAR AL GRADO DE  
LICENCIADA EN QUIMICA Y FARMACIA

NOVIEMBRE DE 2014

SAN SALVADOR, EL SALVADOR, CENTRO AMERICA.

**UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR**

**RECTOR**

ING. MARIO ROBERTO NIETO LOVO

**SECRETARIA GENERAL**

DRA. ANA LETICIA ZAVALA DE AMAYA

**FACULTAD DE QUIMICA Y FARMACIA**

**DECANA**

LICDA. ANABEL DE LOURDES AYALA DE SORIANO

**SECRETARIO**

LIC. FRANCISCO REMBERTO MIXCO LOPEZ

## **COMITE DE TRABAJOS DE GRADUACION**

### **DIRECTORA GENERAL**

Licda. María Concepción Odette Rauda Acevedo

### **ASESORA DE AREA DE CONTROL DE CALIDAD DE PRODUCTOS FARMACEUTICOS, COSMETICOS Y VETERINARIOS**

MSc. Rocío Ruano De Sandoval

### **ASESORA DE AREA DE INDUSTRIA FARMACEUTICA, COSMETICA Y VETERINARIA**

Licda. Ana Cecilia Monterrosa Fernández

### **DOCENTE DIRECTORA**

Licda. Rosa Mirian Rivas De Lara

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco primeramente a Jehovah Dios por darme la capacidad intelectual, la sabiduría, y el deseo de superación. Por estar confortándome en esos momentos difíciles y ayudarme a superarlos. Por darme la fuerza vital y ese empuje para con esfuerzo, dedicación y esmero, cumplir con mi objetivo.

A mis padres Carlos Ernesto Ascencio, Marta Esperanza Cruz y hermana Daisy Ilvea Cruz por su apoyo incondicional en todo sentido, por el amor, el sacrificio, por sus consejos y guía a lo largo de mi carrera.

A mi esposo Jonny Waldo Vásquez Renderos, por apoyarme y sacrificarse para que yo cumpliera con mi cometido de realización profesional, por su amor y dedicación.

A mi Docente Directora Rosa Mirian Rivas de Lara por todo el conocimiento compartido, la paciencia, dedicación y su tiempo brindado.

Un agradecimiento especial para el Lic. Jose Luis Jimenez Molina quien sin conocerme compartió mucha información y parte de sus conocimientos por correo electrónico desde México conmigo.

A la Licda Odette Rauda por la paciencia y ayuda en mi travesía por el trabajo de graduación.

A todas las personas que a lo largo de mi trayecto en el trabajo de graduación aportaron con su granito de arena, para que yo aprendiera y pudiera aplicar esos conocimientos en mi proyecto.

## **DEDICATORIAS**

A Dios Padre amoroso, por darme la vida, por ponerme en el momento y en el lugar preciso para que todo esto sucediera así tal cual. Por regalarme la capacidad intelectual, salud, fuerza y constancia para concluir mi carrera.

A mi madre Marta Esperanza Cruz y mi hermana Daisy Ilvea Cruz quienes con su sacrificio, apoyo en todo sentido, consejos y ejemplos me han ayudado a cumplir mi sueño, lograr mi objetivo. Las amo y les demostré que todo su esfuerzo no fue en vano.

A mi esposo Jonny Waldo Vásquez Renderos, quien se sacrificó por mí, para mi realización profesional, básicamente fuiste mi compañero de tesis, Te Amo, gracias infinitas por todo lo que has hecho.

A mi hija Rebeca Samara por ser ese eje en mi vida que me mueve, por ser mi inspiración, por haber venido a mi vida y convertirme en madre y enseñarme a madurar, Te amo hija, sos el regalo máspreciado que Dios me ha dado.

## INDICE

	Nº de Pag.
<b>Resumen</b>	
<b>Capítulo I</b>	
1. Introducción	xi
<b>Capitulo II</b>	
2. Objetivos	
<b>Capitulo III</b>	
3.0 Marco Teórico	15
3.1 Limpieza	15
3.1.1 Métodos de Limpieza	16
3.2 Validación	18
3.2.1 Definición	18
3.2.2 Validación de Métodos de Limpieza	18
3.2.3 Importancia de Validar la Limpieza	19
3.3 Estableciendo Límites aceptables de residuo	20
3.3.1 Límite basado en la dosis del residuo	22
3.3.2 Límite basado en la muestra de análisis	23
3.3.3 Límite basado en la toxicidad del residuo	27
3.3.4 Límite por defecto	29
3.3.5 Límite basado en la limpieza visual	29
3.3.6 Límite basado en la sensibilidad del método analítico de determinación del Residuo	31
3.3.7 Límite basado en la capacidad del proceso de limpieza	32
3.4 Protocolo de Validación	34
3.5 Métodos de toma de muestra	35
3.5.1 Métodos de toma de muestra para detectar contaminación físico- química	35

3.5.2 Métodos de toma de muestra para detectar contaminación microbiológica	38
3.6 Métodos analíticos	41
3.6.1 Métodos para detectar contaminación físico-química	41
3.6.2 Métodos analíticos para detectar contaminación microbiológica	44
<b>Capítulo IV</b>	
4. Diseño Metodológico	45
<b>Capítulo V</b>	
5. Resultados	
<b>Capítulo VI</b>	
6. Discusión de Resultados	94
<b>Capítulo VII</b>	
7. Conclusiones	96
<b>Capítulo VIII</b>	
8. Recomendaciones	98
Bibliografía	
Anexos	

## RESUMEN

El presente estudio se basó en la recopilación bibliográfica de información sobre Validación de métodos de limpieza, con el fin de proponer una Guía Técnica para la Validación de Métodos de limpieza de equipos, utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles, y así establecer una evidencia documental de que el método de limpieza aplicado a cualquier equipo, utilizado en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles, es el correcto y reduce los residuos a niveles aceptables.

En la propuesta de guía, se detalla el formato y también se incluye el contenido del protocolo de Validación del método de limpieza, eje fundamental para el proceso. El presente trabajo encaminará al farmacéutico en la validación de la limpieza, por lo tanto es de vital importancia seleccionar la información a incluir en él.

El formato de protocolo sugerido dentro de esta investigación puede tomarse en cuenta, ya que en él se establece el contenido básico para llevar a cabo la Validación del método de limpieza. Queda a discreción del farmacéutico el incluir más ítems o apartados dentro del protocolo con su debida justificación técnica y para favorecer o ayudar al estudio.

Además se describen los principales métodos de toma de muestra que pueden utilizarse para la Validación de métodos de limpieza. El fabricante definirá el método de toma de muestras más adecuado y conveniente en cada caso, según el diseño del equipo, el tipo de superficie y la extensión del área a muestrear; además con los parámetros anteriores se definen también los puntos de muestreo y el número de muestras a recolectar.

Se seleccionaron diferentes métodos analíticos para la identificación y cuantificación de los residuos, dándole énfasis a las trazas de principio activo, debido a su toxicidad y/o peligrosidad inminente, sin excluir otro tipo de contaminante, como los excipientes, detergentes u otros.

También se especifican los parámetros de desempeño a evaluar y su desarrollo para la validación de métodos de limpieza, incluyendo los criterios de aceptación en cada parámetro.

La investigación proporciona diferentes criterios y lineamientos para establecer los límites de residuo aceptables, así como ejemplos de algunos principios activos para calcular y definir los límites según criterios brindados.

Para la interpretación estadística de los datos y resultados se sugiere utilizar el método de regresión lineal, para la discriminación de algunas variables independientes que no afecten en gran magnitud al proceso.

La validación de métodos de limpieza, no solo debe ser enfocada en cómo se generan datos sino más bien en la interpretación de resultados para realizar el dictamen.

Se concluye que la Propuesta de Guía de Validación de métodos de limpieza puede ser aplicada por la Industria Farmacéutica para validar cualquier proceso de limpieza empleado en equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales no estériles, puesto que está basada en Guías internacionales para la validación de métodos de limpieza, como son: la Guía de Verificación de limpieza de equipos de la FDA y la Guía de Validación de métodos analíticos de limpieza de equipos de CIPAM. Además esta guía puede aplicarse para diferentes equipos como por ejemplo: tanques y tuberías de acero inoxidable, equipos con partes desmontables, equipos dosificadores, molinos coloidales, entre otros utilizados en la fabricación de líquidos orales no estériles.

El método analítico con los que se analizarán cuantitativa y cualitativamente los residuos debe estar previamente validado, dando énfasis al límite de detección y cuantificación, puesto que las cantidades de contaminante son sumamente bajas (ppm, ppb).

Los parámetros de desempeño para la Validación de métodos de limpieza de equipos, son específicos y están ligados directamente al método de toma de

muestra, a los materiales usados en el procedimiento de toma de muestra y al procedimiento de limpieza.

Se recomienda a los entes reguladores pertinentes en el país gestionar la creación de Guía técnica para la Validación de métodos de limpieza; así como a difundir concientizar y vigilar el cumplimiento de la Guía obtenida para la Industria Farmacéutica.

Se exhorta a la Industria Farmacéutica a validar sus métodos de limpieza de equipos y áreas, para el cumplimiento de nuevas exigencias y requerimientos que cada vez más se presentan, sin perder el sentido ético y moral que debe caracterizar el ejercicio de la profesión.

A los docentes de las cátedras Control de Calidad de productos humanos y veterinarios y Tecnología Farmacéutica y veterinaria: difundir la presente propuesta de Guía Técnica, para capacitar y concientizar sobre la importancia del control de la limpieza de equipos en el proceso de fabricación de productos farmacéuticos.

## I. INTRODUCCION

En la actualidad, muchos organismos reguladores de las Buenas Prácticas de Manufactura, están incrementando sus exigencias para asegurar la calidad de los productos farmacéuticos y como punto de partida se están enfocando en gran medida, en los programas de limpieza, especialmente con la validación de los procedimientos de limpieza de los equipos de producción (Precisamente por los riesgos de contaminación cruzada que puede darse entre diferentes productos farmacéuticos)

No existe un método general para realizar la limpieza de un equipo ni reglas claras para establecer los límites mínimos permisibles de residuos, por lo que es de trascendental importancia no solo un buen procedimiento de limpieza sino también una adecuada estrategia de validación de limpieza.

Durante la fabricación de medicamentos, muchos productos y sus ingredientes activos pueden ser contaminados por otros productos farmacéuticos e ingredientes activos, por los agentes de limpieza, por microorganismos u otros materiales como lubricantes, partículas de aire, materias primas, sustancias intermediarias y auxiliares. En muchos casos el mismo equipo puede ser usado para la elaboración de diferentes productos subsecuentes. Es por ello que es necesario garantizar que la limpieza de los mismos ha sido realizada en forma eficiente (eliminando adecuadamente cualquier contaminante: principio activo, excipientes, jabón, etc.).

La mejor forma de garantizar la realización de este proceso, es por medio de una validación, es decir poseer una evidencia documental de que lo que se ha hecho, funciona para lo que se ha previsto.

Dentro de las Buenas Prácticas de Manufactura la validación es la evidencia documentada que da la seguridad de que un proceso específico, método o sistema producirá consistentemente un producto o resultado que cumple con las especificaciones de calidad o especificaciones previamente establecidas.

Validación de métodos de limpieza es el proceso por el que se establece con evidencia documental de que un proceso de limpieza reduce de manera constante los residuos (activo, excipientes, solventes) en la superficie del equipo a un nivel aceptable preestablecido.

Dado el concepto anterior, se asume que deben establecerse límites de residuos aceptables en que estos no sean ningún riesgo potencial para el consumidor final, ya que el fin de los métodos de limpieza no es eliminar completamente la suciedad, solo reducirla a niveles aceptables dentro de los límites preestablecidos.

Según Normas de Buenas Prácticas de Manufactura, cada equipo debería estar destinado para un producto en específico, sin embargo si varios productos son procesados en el mismo y éste es tratado con el mismo proceso de limpieza, puede seleccionarse un producto representativo. Los criterios de selección pueden basarse en la solubilidad del principio activo y la dificultad de limpieza.

El Salvador no cuenta con una guía clara a seguir para la validación de procesos de limpieza, esta es de vital importancia, puesto que la limpieza es un proceso tan importante, pero no se le da el valor debido.

Es necesario un documento donde se recopilen diferentes criterios para poder validar los procesos de limpieza de equipos utilizados para fabricar: jarabes, emulsiones, suspensiones y soluciones, con que metodología analítica puede validarse tal o cual proceso de limpieza, que método de toma de muestra usar para un producto específico y que parámetros de desempeño evaluar

Se efectuó una Investigación bibliográfica en el período que comprende desde el primer trimestre del año 2013 hasta el segundo trimestre del año 2014; para ordenar, clasificar y utilizar la información, necesaria en la estructuración de una guía técnica. Esta debería facilitar la selección de los parámetros y criterios que corresponden a la Validación del método de limpieza.

## **II. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo general**

Proponer una guía técnica para la validación de métodos de limpieza, de equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.

### **2.2 Objetivos específicos**

- 2.2.1 Proponer un formato para los protocolos de validación de métodos de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales no estériles.
- 2.2.2 Definir los métodos para la toma de muestra que será utilizada en la validación de métodos de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.
- 2.2.3 Establecer criterios para definir los parámetros de desempeño a evaluar en el desarrollo de la validación de un método de limpieza para equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas no estériles.
- 2.2.4 Plantear la metodología analítica con la cual se verificarán los límites de residuos de principio activo.
- 2.2.5 Proporcionar algunos criterios para establecer los límites de residuos aceptables en la limpieza de equipos.

### **III. MARCO TEORICO**

### **3. MARCO TEORICO**

#### **GENERALIDADES**

La vocación de la Industria farmacéutica siempre ha sido producir medicamentos de calidad y con total garantía de seguridad. Al elaborar productos destinados a curar la enfermedad, salvar o mejorar la calidad de vida, no puede haber el mínimo margen de error. Sin embargo, a pesar de los esfuerzos por controlar la fabricación, se exige una mejora continua y máximas garantías de calidad. Es en esta lucha de conseguir un total dominio de la calidad que surge la validación.

La calidad del medicamento se consigue en cada uno de los pasos de su proceso, desde su investigación hasta el último análisis que se realiza al producto terminado. Se debe garantizar cada etapa de la producción, que se realicen de forma adecuada y cumpliendo los parámetros de calidad previamente establecidos. Este máximo grado de calidad sólo es proporcionado a través de la validación. Para obtener medicamentos seguros y eficaces de forma continua, es necesario que su calidad sea constante. Este objetivo se alcanza solo cuando las especificaciones que se aplican están basadas en procedimientos validados.

#### **3.1 LIMPIEZA<sup>(6)</sup>**

Se define la Limpieza como el proceso de separación por medios físicos, mecánicos, o químicos de la suciedad depositada en los equipos utilizados en la fabricación de medicamentos.

La limpieza se efectúa usando uno o varios métodos de limpieza ya sean físicos (restregar, o utilizando flujos turbulentos) o químicos (uso de detergentes, álcalis y ácidos).

El calor es un factor adicional, para ayudar a los medios físicos y químicos y teniendo en cuenta de que debe seleccionarse una temperatura de acuerdo a los detergentes que se usen, las superficies a lavar y la suciedad a eliminar.

Suciedad: todo residuo indeseable sea orgánico o inorgánico incrustado en las superficies y en el equipo que se utiliza en la fabricación de medicamentos.

La suciedad se elimina por 4 mecanismos:

- Solubilización: la suciedad es absorbida por el líquido formando una solución.
- Emulsificación: la suciedad forma gotitas que luego se transfieren a la solución.
- Micelización: la suciedad forma micelas que son transferidas a la solución.
- Acción mecánica: la suciedad es arrancada de la superficie por la energía cinética de la solución.

### **3.1.1 Métodos de limpieza<sup>(6)</sup>**

**Se pueden agrupar en 3:**

- Métodos Manuales: son generalmente simples, dependen del buen hacer del operario, se elimina la suciedad restregando con una solución detergente; Las partes desmontables del equipo se lavan independientemente en cubos o recipientes adecuados con agua o solución detergente a temperatura controlada. Se requiere un buen entrenamiento del operario, para obtener los mismos resultados que con una limpieza automática o semiautomática
- Métodos semiautomáticos: El equipo de limpieza es Limpieza in situ o CIP por sus siglas en inglés: se efectúa sin desarmar el equipo, pero para ello es necesario que el equipo tenga un diseño específico. Este concepto de limpieza se utiliza para reflejar la limpieza de conductos, tuberías, tanques y sistemas de filtración que no se pueden desarmar o desplazar. Para una limpieza efectiva el agente limpiador debe circular a través de las piezas. Para la limpieza eficaz de tuberías y el interior de los equipos se requiere una velocidad mínima de flujo de 1.5 metros por

segundo con flujo turbulento. El empleo de esta técnica implica seguir estrictamente la metodología indicada por el fabricante y verificar cuidadosamente el estado final de la limpieza del equipo.

El paso de los líquidos de lavado a alta velocidad por las superficies de los equipos provoca un rascado mecánico que elimina los depósitos de suciedad (esto solo es aplicable al flujo en tuberías, intercambiadores de calor, bombas, válvulas, centrífugas, etc.).

La técnica utilizada normalmente para la limpieza de grandes depósitos (tanques) consiste en atomizarla solución de detergentes sobre las superficies superiores de los mismos y dejar entonces que descendan por las paredes. En estos casos el efecto mecánico es insuficiente, pero puede ser mejorado hasta cierto punto por la utilización de boquillas de atomización especiales. La limpieza de los depósitos requiere grandes volúmenes de detergentes que deben circular de forma rápida

- Métodos automáticos:

Pulverización a baja presión y alto volumen ( BPAV): es la aplicación de agua o una solución de detergente en grandes volúmenes a presiones de hasta  $6.8 \text{ Kg/ cm}^2$ .  $100 \text{ lbs/ pulg}^2$  .

Pulverización a alta presión y bajo volumen: es la aplicación de agua o solución de detergente en volumen reducido y alta presión es decir de hasta  $68 \text{ Kg/ cm}^2$  ,  $1000 \text{ lbs/ pulg}^2$ .

Limpieza a base de espuma o gelatina: es la aplicación de detergente en forma de espuma o gelatina durante 15 a 20 minutos para enjuagar posteriormente con agua pulverizada.

## **3.2 VALIDACION<sup>(14)</sup>**

### **3.2.1 DEFINICION**

El término validación ha sido definido en distintas literaturas de diversas maneras y por diversos autores, aunque los términos utilizados son diferentes, todas concuerdan con lo mismo: especificar e implementar, aprobar y documentar.

De manera general según las Buenas Prácticas de Manufactura vigentes:

Es el establecimiento de una evidencia documentada que suministra un alto grado de seguridad, de que un proceso específico elaborará en forma permanente un producto que cumple unas características y especificaciones de calidad predeterminadas.

En general se consideran 3 tipos de validación:

- Validación prospectiva: para procesos nuevos.
- Validación retrospectiva: para procesos repetidamente utilizados no validados anteriormente, pero de los cuales se tiene suficiente documentación para probar la “bondad” del proceso.
- Validación concurrente: validación llevada a cabo durante la producción rutinaria de productos destinados a la venta.

### **3.2.2 VALIDACION DE METODOS DE LIMPIEZA<sup>(6)</sup>**

La validación de limpieza de equipos es el proceso de establecimiento de pruebas documentales de que un procedimiento de limpieza específico reducirá los residuos de la superficie de los equipos a un nivel predeterminado aceptable.

La validación de la limpieza es necesaria para todo el equipo que esté en contacto directo con el producto. También se debe realizar en los equipos de envasado primario.

La FDA reafirma la necesidad de documentar los procedimientos de limpieza, en su guía sugiere que se deben tener los procedimientos escritos y bien definidos, detallando todo el proceso, usada para las diferentes piezas del equipo o la máquina. Debe haber un procedimiento de limpieza para limpiar entre diferentes lotes, y un proceso diferente para limpiar en el cambio de producto. De igual manera debe existir un procedimiento para remover los residuos solubles en agua y para remover los residuos no solubles en agua. O si la empresa dedica equipos solo para ciertos productos que se fabrican, que generan ciertas gomas, o residuos difíciles de retirar.

Cuando el procedimiento de limpieza es usado únicamente entre cambios de lote del mismo producto, el criterio a aplicar es visiblemente limpio y no requiere de validarse el proceso.

### **3.2.3 IMPORTANCIA DE VALIDAR LA LIMPIEZA.**<sup>(6)</sup>

La limpieza como método de control se realiza después de terminado el proceso de fabricación de un medicamento o una forma farmacéutica, para asegurar que cuando se empiece con un nuevo proceso de producción con un activo diferente no existan residuos de la molécula anterior que sean significativos, causando contaminación cruzada y que finalmente sea perjudicial para la persona que consumirá el medicamento y para la empresa.

Se le da gran énfasis, a los residuos de activos pues estos además de que algunos son altamente peligrosos debido a su toxicidad, generan compuestos de degradación que en la presente investigación no se tomaran en cuenta debido a la magnitud de lo mismo.

Ciertos activos como las hormonas, los antibióticos  $\beta$ -lactámicos, los esteroides, entre otras sustancias, son muy peligrosas debido en algunos casos a su toxicidad, en algunos otros por los efectos adversos que provocan. En el caso de los antibióticos  $\beta$ -lactámicos en algunas personas provocan reacciones alérgicas, lo cual puede conducir a un shock anafiláctico y al final la muerte.

### **3.3 ESTABLECIENDO LIMITES ACEPTABLES DE RESIDUOS<sup>(9)</sup>**

Actualmente las autoridades sanitarias de cada país basándose en la *Guía de inspección y procesos de validación de limpieza de la FDA*, han establecido reglamentos y normativas orientadas a la implementación del aseguramiento de la calidad en la Industria Farmacéutica para lograr que sus productos obtengan la calidad requerida internacionalmente.

La validación de limpieza constituye un elemento de suma importancia en la producción de medicamentos, siendo parte esencial de la garantía y calidad de manufactura del producto farmacéutico. Ella asegura que el residuo que permanece en la superficie de los equipos, luego de aplicar la limpieza establecida en los procedimientos normalizados de operación, se encuentre dentro de los niveles permisibles predeterminados. La validación de la limpieza comprende la identificación y caracterización de los residuos (principio activo, excipientes, productos de degradación, preservantes, agentes de limpieza, microorganismos, etc.), selección de los criterios para el cálculo del límite aceptable de residuo, selección y validación del método de muestreo, selección y validación del método analítico para la determinación de los residuos, selección y validación del procedimiento de limpieza, elaboración del informe final y de las instrucciones operacionales.

La clave para una validación de limpieza efectiva es determinar cuán limpio es suficientemente limpio. Esto está usualmente determinado por el establecimiento del límite de residuo para un ingrediente activo específico. Por eso, antes de comenzar un estudio factible de validación de limpieza hay que seleccionar un analito y un límite aceptable de residuo para ese analito. Este aspecto constituye uno de los más importantes y difíciles de resolver dentro del programa de validación de limpieza. Desdichadamente no existe una guía clara para el límite aceptable de residuo en la manufactura de un producto, de ahí la importancia que tiene la recopilación y el análisis de los criterios utilizados por la

literatura para determinar este. Este trabajo tiene por objetivo escoger los criterios más utilizados en el cálculo del límite aceptable de residuo. Así como el de contribuir en la divulgación de la necesidad del establecimiento de un límite correcto teniendo en cuenta los elementos aquí reunidos.

El documento guía de la FDA para la validación de limpieza solo establece que el límite de residuo debe ser lógico, práctico, alcanzable, verificable y 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.

Algunos de los criterios que la FDA toma en cuenta en su Guía para la inspección de validación del proceso de limpieza son:

- Ninguna cantidad de residuo debe estar visible en el equipo después de que se ejecuten los procedimientos de limpieza.
- Cualquier activo puede estar presente en el siguiente producto hasta un nivel máximo de 10 ppm
- Cualquier ingrediente activo puede estar presente en el siguiente producto en un nivel máximo de 1/ 1000 de la dosis mínima diaria del agente activo en una dosis máxima diaria del producto siguiente.

Estos criterios han sido ampliamente utilizados por la Industria farmacéutica para la determinación de límites aceptables de residuos.

Los niveles de residuos serán determinados según el potencial farmacológico, seguridad, toxicidad, estabilidad y efectos de contaminación sobre el próximo producto. También para estimar los límites aceptables de residuo se debe tener en cuenta la vía de administración del producto, si se trata de un principio activo

o un producto terminado, el límite de detección de la técnica analítica, el proceso de fabricación y la capacidad del procedimiento de limpieza.

### 3.3.1 LÍMITE BASADO EN LA DOSIS DEL RESIDUO<sup>(4)</sup>

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. El límite aceptable de residuo (LAR) desde este punto de vista 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).

$$LAR_{(ppm)} = FS \times \frac{DDMin A}{DDMax prod B} \times TLprod \quad (\text{ec. 1})$$

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 ruta de administración (tabla 1).

*Tabla 1. Factores de seguridad según la vía de administración*

Vía de Administración	Factor de seguridad
Parenteral, oftalmológica	0.0001
Oral	0.001
Tópica	0.01

Desde el punto de vista científico no existe objeción si se escoge un factor de seguridad menor que 0,001 por ejemplo (en el caso de productos por vía oral) 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.

### **3.3.2 LIMITE DE RESIDUO BASADO EN LA MUESTRA DE ANALISIS<sup>(4)</sup>**

Este límite de análisis lo realizó Destin A. LeBlanc quien ha desarrollado muchos trabajos referentes al tema de la validación de limpieza. En sus análisis retoma el criterio anterior pero incluye nuevos elementos en la fórmula para obtener el límite más verdadero y más adecuado al proceso de la contaminación, limpieza y control del residuo. Además hace un análisis separado de cada uno de los límites a través de los cuales se obtiene el límite de residuo en la muestra analítica, esto contribuye a una mejor comprensión y entendimiento del límite de residuo en cada una de las etapas del proceso.

Al LAR LeBlanc lo denomina límite de 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. 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)

$$L1_{(ppm)} = FS \times \frac{DDMinA}{DDMaxprodB} \times TLprodB \quad (\text{ec. 2})$$

$$L2 = L1 \times \frac{TLprodB}{ACE} \times 1000 \quad (\text{ec. 3})$$

$$L3_{(ppm)} = L2 \times \frac{ASM}{CDD} \quad (\text{ec. 4})$$

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). En esta ecuación las dosis están expresadas en la misma unidad, por ejemplo, en miligramo, y para expresar L1 en p.p.m. se utiliza 106 como un factor de conversión.

L2: límite por área de superficie, depende del límite en el producto siguiente expresado en ppm (L 1), 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 1000 es un factor de conversión de kilogramo a gramo. Para el valor del área de superficie se considera toda el área de la superficie de contacto. En este cálculo se asume que toda la contaminación está distribuida uniformemente por toda la superficie del equipo.

L3: es el límite de residuo (en microgramo por gramo o microgramo por milímetro) para la muestra analítica. Debemos conocer el límite de residuo por área de superficie (L 2), 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.

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.

$$LAR \text{ ó } L3(g/mL) = \frac{FS \times DDMinA \times TLprodB \times ASM \times 10^9}{DDMaxB \times ACE \times CDD} \text{ (ec. 5)}$$

Donde:

FS = Factor de seguridad

DDMinA = Dosis Diaria mínima del producto A

TLprodB = Tamaño de Lote del Producto B

ASM = Área de la Superficie Muestreada

DDMaxB = Dosis Diaria Máxima del Producto B

ACE = Área Compartida del Equipo

CDD = Cantidad Desorbida de Disolvente

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.

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

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

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

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

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

$$LAR \text{ ó } L4 = FS \times \frac{DDMinp.a.A \times TLp.a.B \times ASM \times 10^9}{DDMaxp.a.B \times ACE \times CDD} \quad (\text{ec.11})$$

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.

En el caso de industrias que poseen productos farmacéuticos con formulaciones de diferentes dosis, se escogerá como límite de residuo del principio activo A en el principio activo B el mayor valor de dosis de las formulaciones de B, que se corresponderá con el menor límite de residuo del ingrediente activo A.

### **3.3.3 LIMITE BASADO EN LA TOXICIDAD DEL RESIDUO<sup>(4)</sup>**

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. 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 (CAD) el cual tiene en cuenta el efecto tóxico de la sustancia en el cuerpo.

El efecto tóxico de una sustancia en el cuerpo humano se estima a través de la toxicidad en animales. Así, LD<sub>50</sub> (Letal Dosis, LD<sub>50</sub> por sus siglas en inglés) es la dosis letal media o toxicidad aguda en animales. Usualmente se expresa en miligramo por kilogramo de peso del animal y es la dosis de toxicidad a la cual mueren la mitad de los animales de experimentación con la sustancia probada.

Para efectuar una conversión correcta de los datos de toxicidad aguda en animales a el CAD en humanos para una sustancia dada, hay que tener en cuenta que la vía de administración de la sustancia debe ser la misma en ambos. Existen varias referencias que proporcionan el factor para convertir la toxicidad aguda en animales en un estimado de CAD. Por ejemplo, algunas referencias establecen que para convertir la dosis letal media para animales en CAD puede emplearse un factor de seguridad de 1000 con un factor adicional de 1 a 10.

El CAD puede calcularse directamente a través de la expresión:

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

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.

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):

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

Una vez estimado el CAD, 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).

$$\text{LAR ó L3} = \frac{\text{CAD} \times \text{TLprodB} \times \text{ASM} \times 10^9}{\text{DDMaxprodB} \times \text{ACE} \times \text{CDD}} \quad (\text{ec. 12})$$

Donde:

CAD = Consumo Aceptable Diario

TLprodB = Tamaño de Lote del Producto B

ASM = Área de la Superficie Muestreada  
DDMaxprodB = Dosis Diaria Máxima del Producto B  
ACE = Área compartida del Equipo  
CDD = Cantidad Desorbida de Disolvente

De la ecuación anterior se nota que el CAD reemplaza a la DDMin del residuo blanco reducida por el factor de seguridad, ya que al definir el CAD se incluye un factor de seguridad, por eso no son necesarios factores adicionales.

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.

#### **3.3.4 LIMITE POR DEFECTO<sup>(4)</sup>**

Se conoce como límite por defecto al valor de 10 p.p.m. que se recoge en el segundo criterio de referencia que aparece propuesto por la FDA en el documento guía sobre validación de procesos de limpieza. Se trata de un límite socorrido que puede utilizarse cuando aún no se han establecido otros criterios más adecuados para controlar el residuo.

El valor de 10 p.p.m. 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 p.p.m.

#### **3.3.5 LIMITE BASADO EN LA LIMPIEZA VISUAL<sup>(4)</sup>**

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. El examen visual

de la superficie es un método con una larga trayectoria de resultados satisfactorios. Este método permite simplificar muchos pasos del proceso de validación si es sustentado sobre criterios estrictos, ya que no es necesaria una cuantificación adicional de los límites residuales. 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.

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. Aunque este enfoque del límite aceptable de residuo puede usarse en cualquiera de las etapas del proceso productivo la mejor candidata es el envase, ya que el riesgo de transferir residuo se incrementa cuando el producto está en su forma terminada.

La detección visual sobre la superficie de contacto del equipo como control de limpieza es más segura en productos orales y no estériles, por ejemplo, en tabletas. Los casos de inyectables o productos tóxicos como citostáticos requieren un nivel adicional de prueba.

El límite de detección visual debe determinarse empíricamente con el residuo de interés. Conociendo el peso del principio activo, excipientes o ambos, se pueden depositar húmedo y seco sobre superficies de interés para determinar

el límite de detección visual. Se podría preparar un experimento depositando cantidades crecientes de residuo sobre superficies modelos y determinar el nivel de limpieza visual. 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. Generalmente la línea divisoria entre limpieza visual y suciedad visual es considerada en el rango de  $4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . 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.

Para el caso de drogas potentes donde el límite aceptable de residuo por área de superficie es por lo general inferior a  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ , si la superficie está visualmente sucia indicaría falta de limpieza, pero una superficie visualmente limpia no podría garantizar que el residuo se encuentra en un nivel aceptable.

### **3.3.6 LÍMITE BASADO EN LA SENSIBILIDAD DEL MÉTODO ANALÍTICO DE DETERMINACIÓN DEL RESIDUO<sup>(4)</sup>**

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 ilógica y poco práctica. La decisión de considerar el límite de detección del método analítico como el límite de residuo de limpieza es puramente del fabricante, el cual debe evaluar factores como la naturaleza del producto y la naturaleza y uso del otro producto a elaborar posteriormente.

En ocasiones el valor del límite aceptable de residuo calculado para la muestra de limpieza (L3) es menor que el límite de detección del método analítico. En

esta situación debe buscarse otra técnica de análisis o mejorar el instrumental de análisis. Por ejemplo, si es una técnica por cromatografía líquida de alta resolución se puede aumentar la ganancia del detector o inyectar más volumen de muestra, etc. Afortunadamente el valor de L3 no es estático sino que se puede influir sobre él para incrementarlo, modificando el procedimiento de muestreo y análisis del residuo. Esto se puede lograr al muestrear grandes áreas de superficies del equipo o desorbiendo el hisopo en pequeños volúmenes de disolvente. Tanto al muestrear grandes áreas como al desorber la muestra en pequeños volúmenes se puede disminuir el factor de recobrado, lo cual adiciona incertidumbre a la determinación del residuo. Cuando no existe una técnica de análisis lo suficientemente sensible se debe establecer un compromiso entre la posibilidad de aumentar el LAR (L3) y la disminución del factor de recobrado. Una buena idea para aumentar L3 hasta superar el límite de detección de la técnica es desorber el residuo del hisopo en una cantidad adecuada de disolvente, por ejemplo 5 mL. Luego concentrar la muestra por evaporación total del disolvente y redissolver en una cantidad menor, por ejemplo 2 mL

### **3.3.7 LÍMITE BASADO EN LA CAPACIDAD DEL PROCESO DE LIMPIEZA<sup>(4)</sup>**

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. El fabricante puede establecer el LAR por debajo de L3 en dependencia de la capacidad del proceso de limpieza sin temor a estarlo sobre estimando o exigiendo una limpieza excesiva, ya que debe limpiarse tanto como razonablemente pueda lograrse. Si el productor no tiene suficientes datos sobre la capacidad de un proceso de limpieza entonces debe establecer un proceso de limpieza que logre resultados inferiores al límite de residuo calculado (L3).

Nunca se debe establecer el LAR en la capacidad del proceso de limpieza si este produce resultados mayores que L3.

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. Por ejemplo, si históricamente se cuenta con un residuo de principio activo en el agua de enjuague menor a 0,3 p.p.m y el valor calculado de L3 es 1,4 p.p.m., se puede establecer el valor de 0,6 p.p.m como un nivel de alerta y el de 0,8 p.p.m como alarma para comenzar a tomar medidas. Así, si después de la limpieza se obtienen valores alrededor de 0,8 p.p.m el productor debe preocuparse porque los valores del agua de enjuague se obtuvieron fuera del intervalo acostumbrado. Si en el próximo lote todo está normal, entonces no hay ningún problema. Si por el contrario el agua de enjuague del próximo lote vuelve a dar fuera de lo normal, entonces se debe iniciar una investigación porque algo diferente está ocurriendo en el proceso de limpieza, en el proceso de producción, en la técnica de muestreo o en el procedimiento de análisis. En ningún caso se rechaza el lote mientras los resultados de las muestras de limpieza sean menores que L3. De esta forma la capacidad del proceso puede ser una herramienta inestimable para controlar y asegurar la consistencia del procedimiento de limpieza.

A efectos de validación y buscando siempre el peor caso, interesa:

- Que el tamaño del lote A sea el máximo ( $P_{\text{máx}}$ ) que se puede fabricar en el equipo puesto que así cederá la máxima contaminación. Si no es así puede incluirse un factor de corrección  $f$  en los cálculos ( $f = P_{\text{máx}}/PA$ ) cuando el equipo se ensucia más con el tamaño de lote máximo ( $P_{\text{máx}}$ ) que con el tamaño de lote prototipo ( $PA$ ).

- Que el tamaño del lote del producto siguiente sea el mínimo que se puede fabricar en el equipo puesto que así podrá contener la máxima concentración de contaminante.

Cuando se efectúa la validación de un equipo determinado se selecciona dos o tres procedimientos de muestreo diferentes y se calcula mediante las diferentes fórmulas las ppm de contaminante para cada sistema de muestreo.

### **3.4 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN <sup>(6)</sup>**

El protocolo de validación de limpieza es un documento previo que sirve como base de trabajo para llegar a establecer un método de limpieza rutinario.

Esquemáticamente un protocolo de validación es un programa experimental multidisciplinar preparado y aprobado por todos los profesionales de las diversas áreas relacionadas con el tema: Producción, Investigación y Desarrollo, Aseguramiento de la calidad y Control de Calidad.

El protocolo debe incluir la definición del sistema o equipo a limpiar y la descripción o referencia del método a seguir que será considerado como provisional.

Un protocolo de validación de limpieza debe constar de las siguientes partes:

- a) Objetivo
- b) Alcance
- c) Responsabilidades
- d) Procedimiento de limpieza a validar: descripción del método de limpieza o modus operandi a seguir de los operarios.

Aquí debe mencionarse el lugar donde esté ubicado el equipo, hay que describir el área donde está ubicado el equipo, indicar los materiales de que está construida; una breve descripción del equipo, (tamaño, capacidad), el material del cual está construido.

Si la limpieza es manual deben señalarse los materiales y el equipo que se utilizan para realizarla, de que material son y muy importante es incluir

la ficha técnica y de seguridad del producto de limpieza (jabón) o desinfectante

- e) Selección de las condiciones experimentales del protocolo
  - Parámetros físicos de la validación
  - Posibles contaminantes a monitorear.
  - Procedimientos de muestreo
  - Métodos analíticos
  - Límites de aceptación de residuos
  - Selección final de los productos y las condiciones con las que se realizará el protocolo.
- f) Recopilación de datos, informes y conclusiones
- g) Frecuencia de validación y revalidaciones

### **3.5 MÉTODOS DE TOMA DE MUESTRA<sup>(6)</sup>**

Se explicarán por separado los muestreos para detectar contaminación del tipo físico-químico, de los muestreos para descartar contaminación del tipo microbiológica.

#### **3.5.1 Métodos de toma de muestra para detectar contaminación físico-química:**

- 3.5.1.1 Método del hisopado: es el procedimiento más real pues es una muestra más representativa, debido a que se arrastran todos los contaminantes que no han sido eliminados con la limpieza. Para este método se utilizan hisopos de algodón, secos o húmedos con agua o con disolvente orgánico de acuerdo al residuo que se pretende detectar. La validación del método analítico que determine los residuos arrastrados con esta operación debe incluir necesariamente

un ensayo de recuperación para evidenciar su exactitud. Si el % de recobro es bajo se debe emplear un factor de corrección en el cálculo de los residuos.

- 3.5.1.2 Método de toma de muestra del agua de enjuague o disolvente del lavado final: Este debería de ser un control habitual en reactores, depósitos y equipos utilizados para la fabricación de formas farmacéuticas líquidas y semisólidas. Para la validación puede mencionarse que no es conveniente utilizar el agua de enjuague ya que ésta es parte del proceso de lavado, por lo tanto no debe hacerse la toma de muestra de este lavado sino que una vez el equipo esté limpio y enjuagado, se debe proceder a pasar agua por el equipo. En esta agua de enjuague se determinarían los residuos de analito. Si el agua no es un buen disolvente de los potenciales contaminantes del equipo se sustituirá por un solvente orgánico.
- 3.5.1.3 Método de placebo: Es utilizado para equipos donde se fabrican formas farmacéuticas sólidas, simulando las condiciones de uso una vez limpio el equipo. Es una buena manera de conocer la cantidad de analito que puede pasar al siguiente producto a procesar.
- 3.5.1.4 Métodos de toma de muestra especiales de equipos dosificadores: En equipos como tableteadoras, encapsuladoras, dosificadoras de polvos, llenadoras de líquidos, llenadoras de tubos es sumamente importante comprobar la limpieza de los elementos dosificadores puesto que son puntos críticos. En casos como estos puede efectuarse el procedimiento de muestreo con hisopado, pero si son puntos muy inaccesibles, que es lo más común, deben hacerse muestreos especiales:
- Por inmersión: este proceso se realiza, sumergiendo las piezas desmontables y de difícil acceso a la limpieza en un volumen conocido de soluciones hidroalcohólicas, tras un tiempo de contacto y agitación

se toma la muestra para el control analítico de residuos de contaminante. Generalmente se realiza este proceso cuando el procedimiento de limpieza señala que deben desmontarse tales piezas.

- Enjuagado (Líquidos) o barrido con placebo (sólidos) de los elementos dosificadores. Este método consiste en pasar agua o excipientes inertes por los elementos de dosificación, tomando las primeras fracciones para el control analítico de los residuos de contaminante. Se practica este método cuando el procedimiento de limpieza no obliga a desmontar las piezas de dosificación o no es posible hacerlo.

#### 3.5.1.5 Método de toma de muestra del lote siguiente:

Si tras fabricar un lote de producto A se fabrica un lote de producto B, es posible buscar residuos del principio activo de A en B como indicativo de la eficacia de la limpieza. Para ello, se toma una muestra del lote de producto B a granel o bien de las primeras unidades producidas (“peor caso”).

Sin embargo, a efectos de validación no es demasiado aconsejable ya que el método analítico para la determinación del analito A puede presentar interferencias debidas a los componentes del producto B, lo que supone una disminución de sensibilidad y un esfuerzo considerable de validación analítica.

#### 3.5.1.6 Métodos de toma de muestra especiales del aire ambiental y de las superficies de paredes y suelos:

En el caso de instalaciones destinadas a la fabricación de productos tóxicos, hormonales, citostáticos, sensibilizantes, etc., o si existe la posibilidad de contaminación cruzada con el aire ambiental de otros

locales de la planta, puede ser necesario muestrear al aire (técnica de impactación sobre filtros de membrana) y las superficies de paredes y suelos (hisopos).

### **3.5.2 Métodos de toma de muestra para detectar contaminación microbiológica**

#### **3.5.2.1 Métodos de toma de muestra de la superficie del equipo:**

- Método con hisopos. Mediante hisopos estériles humedecidos con suero fisiológico (solución salina normal) se muestrea una superficie determinada, por lo general de 25 cm<sup>2</sup>. Posteriormente se siembra por estría en placa de Petri, en medio líquido o se filtra el líquido de extracción en cuyo caso puede cuantificarse.

Este método presenta una baja recuperación comparados con la de la placa Rodac (25 – 34% de recuperación en superficies duras y secas, 47 – 63% en superficies duras y húmedas), por lo que se considera semi-cuantitativo. Tiene la ventaja de permitir el muestreo en puntos de difícil acceso.

Los puntos de muestreo microbiológico no deben coincidir exactamente con los de muestreo químico para evitar contaminación mutua.

- Método de inmersión: en casos especiales se sumergen partes del equipo en volumen conocido de líquido estéril el cual se puede sembrar directamente o se filtra a través de membrana 0.45 μ que posteriormente se somete a incubación.
- Método con placas de contacto:(Rodac, Petrifilm, laminocultivo)

La placa Rodac es una placa Petri modificada que contiene medio de cultivo sólido y cuya superficie es ligeramente convexa. Una variante es el laminocultivo, con el medio depositado sobre una lámina rectangular. El petrifilm consiste en una doble película que contiene medio deshidratado en su interior.

La correlación entre Rodac y Petrifilm es buena. La primera tiene la ventaja de que está listo para su uso y la segunda que, debido a su flexibilidad, permite el muestreo de superficies curvas e irregulares.

Igualmente, tras muestrear con placas de contacto deben eliminarse los restos de medio de cultivo para evitar que sean un foco de contaminación en el equipo.

#### 3.5.2.2 Toma de muestra del agua o disolvente de lavado final

Se efectúa la filtración por membrana de 0,45 µm de un volumen conocido del agua de enjuagado final o del enjuagado a efectos de validación. El recipiente utilizado para tomar la muestra, se esterilizará por calor seco durante una hora a 250°C, especialmente para los ensayos de endotoxinas y ATPmetría.

#### 3.5.2.3 Método de toma de muestra del aire ambiental y de las superficies de las paredes y suelos.

Para la toma de muestra de superficies se utilizarán placas de contacto o hisopos, ya descritos en el muestreo de las superficies de los equipos.

Para la toma de muestra del aire ambiental se utilizará alguno de los procedimientos siguientes:

##### **Métodos cualitativos**

- Método de sedimentación sobre placas estáticas. Se emplean placas de Petri de 60 o 150 cm<sup>2</sup> conteniendo medio de cultivo sólido, que se exponen destapadas durante un período de tiempo adecuado (1 a 4 horas) en un punto determinado.

Los microorganismos del aire transportados por las partículas se depositan aleatoriamente en función de su tamaño y de las corrientes de aire sobre la superficie del agar. Los valores obtenidos después del período de incubación no son cuantitativos y no pueden compararse con

los límites recomendados por las normativas. Sólo sirven para comparar la evolución de contaminantes de un mismo punto de la zona.

### **Métodos cuantitativos**

- Filtración por membrana. Se aspira un volumen determinado de aire a través de un filtro de membrana en el que son retenidos los microorganismos. Los filtros de gelatina dan a los gérmenes mayores posibilidades de supervivencia que los de otro material y aseguran un estrecho contacto con el medio nutritivo. Posteriormente, se siembra en un medio de cultivo, se incuba y se cuantifica la contaminación. Requiere elevada destreza técnica por su mayor manipulación y debe evitarse la desecación del medio que originaría pérdida de viabilidad.
- Centrifugación. Se hace pasar un determinado volumen de aire, que impulsa a los gérmenes adheridos y las partículas de polvo hacia un medio de cultivo que se incuba directamente. Este método proporciona buenos resultados en el caso de bajas concentraciones microbiológicas.
- Impactación sobre medio sólido:
  - a. Hendidura en agar (slit – to – agar): consiste en una placa giratoria, conteniendo medio de cultivo, situada bajo un orificio fijo y en posición radial. El instrumento está unido a una bomba de vacío que lleva un medidor del caudal de aire. Este aparato puede ser dañado por polvos, por lo que debe tenerse cuidado en áreas muy polucionadas.
  - b. Cascada o tamiz: las partículas de aire se hacen impactar según su tamaño y mediante un sistema de vacío sobre placas conteniendo un medio de cultivo adecuado. La elevada velocidad de aire empleada en este aparato puede provocar deshidratación del medio de cultivo.
- Borboteo en medio líquido: se hace pasar un determinado volumen de aire a través de un líquido de lavado (tampón o medio de cultivo) que

posteriormente se filtra por membrana, incubándose en un medio de cultivo y en condiciones adecuadas. Es un método caro y engorroso que no se utiliza rutinariamente. A causa del elevado flujo de aire, los agregados tienden a fragmentarse de manera que el contaje total obtenido es mayor que el número real de microorganismos.

Debe tenerse en cuenta que algunos de estos métodos a causa de la manipulación requerida o por la propia técnica de muestreo, pueden alterar los flujos laminares y las condiciones ambientales de la sala que se desea controlar.

Es importante comprobar el ajuste de los apartados de muestreo y calibrarlos periódicamente, sea por parte del propio usuario o por el fabricante. De no ser así, pueden cometerse errores importantes al calcular los resultados.

### **3.6 MÉTODOS ANALÍTICOS<sup>(6)</sup>**

Se seleccionaran en base a los contaminantes que se desee monitorizar, se describirán a continuación los métodos que pueden utilizarse para detectar contaminación físico-química y para detectar contaminación microbiológica.

#### **3.6.1 Métodos para detectar contaminación físico-química**

##### **3.6.1.1 Métodos físicos y sensoriales**

3.6.1.1.1 Control organoléptico y visual del equipo o de partes del equipo que se desmontan para realizar este control.

Dependiendo del tipo de suciedad, la cantidad de contaminante presente en una superficie que no supera el control organoléptico es del orden de 4 – 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (equivalentes a 100 – 500  $\mu\text{g}/25 \text{ cm}^2$ ). Una superficie limpia, tanto si está seca como si está húmeda, no debe contener ninguna materia extraña cuando se comprueba por alguno de los siguientes sistemas:

- No debe ser untuoso al tacto.
- Al frotar con un pañuelo de celulosa o un trozo de algodón, no deben aparecer restos de suciedad.
- Debe ser prácticamente inodora.

#### 3.6.1.1.2 Control del agua del ultimo lavado o enjuague a efectos de validación

- Métodos visuales: control de partículas visibles y de turbidez o espuma
- Métodos instrumentales: conteo de partículas inferiores a 50  $\mu\text{m}$  por microscopio o contador de partículas.

#### 3.6.1.2 **Métodos químicos y físico-químicos**

##### 3.6.1.2.1 Métodos cuantitativos específicos

De no haber interferencias importantes debidas a la naturaleza de la muestra, se pueden emplear métodos poco selectivos como espectrofotometría UV-Vis, fluorimetría, polarografía, o métodos electroanalíticos.

Si existen interferencias se deben utilizar métodos cromatográficos que son mucho más selectivos como: cromatografía de capa fina, cromatografía de gases o cromatografía líquida.

En caso de que el analito sea una sustancia inorgánica es posible espectroscopía de absorción atómica.

Los métodos cuantitativos deben estar validados por tratarse de un análisis de trazas los parámetros fundamentales a determinar serán la especificidad, límite de cuantificación, también la linealidad y precisión.

##### 3.6.1.2.2 Métodos cuantitativos poco específicos

Existen otros métodos que no son específicos en el sentido en que no determinan a un analito determinado, que son fáciles de realizar y en muchos casos son suficientes.

- Análisis de Carbono orgánico total. (TOC) detecta partes por billón de analito (ppb), pero su uso se limita a muestras solubles en agua, se puede utilizar en muestras del agua de enjuague de los equipos.
- Sólidos totales: Material no volátil orgánico e inorgánico presente en las agua de enjuague o muestras de hisopo, esta información es muy limitado debido a su inespecificidad.
- pH: detecta presencia de residuos ácidos o alcalinos en las aguas de enjuague, esta determinación es muy útil para el control de residuos de detergente.
- Osmolalidad o Conductividad. Detectan la presencia de los residuos de sustancias iónicas en medio acuoso. Este análisis se podría utilizar por ej: con medicamentos con sales metálicas, como el Hierro.

#### 3.6.1.2.3 Métodos cualitativos

Se utilizan para detectar la presencia de restos de detergentes o agentes sanitizantes junto con los ya comentados de pH y conductividad. Son reacciones de coloración o precipitación específicas que varían en función de los agentes a investigar.

Deben validarse para los parámetros especificidad y límite de detección. Las reacciones que no sean suficientemente sensibles no deben utilizarse. Por ejemplo:

1. Reacciones de precipitación: los detergentes fosfatados dan positivo a la reacción con sales de bario o nitrato de plata, etc.
2. Reacciones de coloración: los detergentes fosfatados dan positivo a la reacción con azul de molibdeno, los sanitizantes yodados dan positivo con almidón soluble, los sanitizantes clorados dan positivos con ortotoluidina, etc.

### **3.6.2 Métodos analíticos para determinar contaminación microbiológica**

3.6.2.1 Aislamiento de colonias: Las muestras procedentes del muestreo de superficies (placas de contacto, hisopos), de inmersión, agua de lavado y ambiente se incuban directamente o bien tras filtración por membrana según los casos.

3.6.2.2 Identificación cualitativa de los microorganismos patógenos. Las colonias sospechosas se identificarán por procedimientos específicos. Como gérmenes indicadores de patogenicidad interesan especialmente:

1. Staphylococcus aureus.
2. Escherichia coli.
3. Pseudomonas aeruginosa y P. cepacia
4. Salmonella spp.
5. Candida albicans.

En el caso de aislar repetidamente un mismo tipo de contaminante o, cuando interese investigar un tipo determinado de microorganismos, se utilizarán directamente medios de cultivo y temperaturas de incubación selectivos para dicha especie.

## 4 DISEÑO METODOLOGICO

### 1) Tipo de estudio

La investigación es de tipo:

- Bibliográfica: Se realizó una exhaustiva investigación bibliográfica para recopilar la suficiente información referente al tema de Validación de limpieza de equipos.
- Transversal: el presente trabajo se enfocó en el estudio del problema en el presente, durante el período de Noviembre de 2012 hasta el primer trimestre de 2014.

### 2) Investigación Bibliográfica

Se visitaron las siguientes bibliotecas:

Biblioteca de Facultad de Química y farmacia “Dr. Benjamín Orozco”

Biblioteca Central de la Universidad de El Salvador

Biblioteca de la Universidad Salvadoreña “Alberto Masferrer”

Biblioteca Virtual de la Asociación de Universidades Privadas de El Salvador.

Internet.

- **Universo:** Todas las guías técnicas de validación de métodos y procesos que pueden ser aplicadas a un Laboratorio de Industria Farmacéutica.
- **Muestra:** Las guías técnicas de validación de métodos de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.

A partir de la Investigación Bibliográfica se plantea la presente “Propuesta de Guía técnica para la validación de métodos de limpieza de equipos utilizados en

la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles”, recopila la información básica para validar procesos de limpieza de equipos.

A continuación se detallan las partes que comprende la Guía técnica:(4)

1. **Introducción:** breve descripción-resumen de lo que engloba la guía, para introducir al lector al tema en cuestión.
2. **Objetivo:** describirá el propósito principal de la guía.
3. **Alcance:** aquí se definirán o detallarán para que laboratorios, áreas, equipos, y que productos es aplicable la guía.
4. **Definiciones:** se incluirá un listado de términos con su significado que son frecuentes en el ámbito de validación, pero que probablemente el lector no conozca para facilitar la comprensión del tema.
5. **Requisitos generales:**
  - 5.1 **Establecimiento del protocolo de validación:**

## **V. RESULTADOS**

Para el cumplimiento de los objetivos planteados, el primer paso que se realizó fue la elaboración del formato de Protocolo de Validación de métodos de limpieza, a continuación se menciona su contenido principal:

Logo del laboratorio fabricante	Código del documento	Pag X de Y Revision: Vigencia:
Nombre del laboratorio fabricante	Protocolo de validación de limpieza del procedimiento (colocar el código del procedimiento) del equipo (especificar).	

- **Objetivo**
- **Alcance**
- **Responsabilidades**
- **Procedimiento de validación del método de limpieza**
- **Selección de condiciones experimentales del protocolo:**
  - a) **Parámetros físicos de la validación**
  - b) **Posibles contaminantes a monitorear.**
  - c) **Procedimientos de muestreo – Toma de muestra**
  - d) **Métodos analíticos**
  - e) **Parámetros de desempeño a evaluar**
  - f) **Límites de aceptación de residuos**
  - g) **Selección final de los productos y las condiciones con las que se realizará el protocolo**
- **Recopilación de datos, informes y conclusiones**
- **Frecuencia de validación y revalidaciones.**

- **Establecimiento del Protocolo de Validación**

Como se menciona en el marco teórico, este es un programa experimental multidisciplinar, documento previo que sirve como base de trabajo para llegar a establecer un método de limpieza rutinario. En este se especificaran el procedimiento de limpieza a evaluar, para qué equipo o equipos es aplicable (lo cual se incluye en el alcance), el tipo de toma de muestra a emplear, parámetros de desempeño a evaluar, la metodología analítica a disponer y el establecimiento de límites de residuo aceptables

- **Realización de la validación del método de limpieza:** donde se desarrollará la parte practico-analítica de la Validación, esto incluye el establecimiento del procedimiento para la toma de las muestra, algunos de los métodos se plasman en el siguiente cuadro

Cuadro N°1: Métodos de toma de muestra

<b>Método de toma de muestra</b>	<b>Procedimiento</b>
<b>Hisopado</b>	En los puntos definidos previamente (dependen directamente del diseño del equipo) se colecta la muestra frotando hisopos empapado con el solvente adecuado para el contaminante o residuo de interés en la superficie del equipo, para luego sumergir en el mismo solvente y posterior almacenamiento o análisis de la muestra.
<b>Enjuagado</b>	En ductos, tuberías, elementos de equipos dosificadores, u otro equipo que no pueda desmontarse se hace pasar una cantidad de solvente conocida, después de la limpieza y el enjuagado, y se recolecta en recipientes adecuados para el análisis de la muestra.

**La metodología analítica** a aplicar dependerá directamente del residuo de interés y de factores como la sensibilidad del método o los límites de detección y cuantificación del mismo que se evalúan en la validación propia de cada metodología.

Se clasificarán los diferentes métodos de análisis para detectar contaminación del tipo físico-química y microbiológica,

Los métodos con fines de detección de contaminación físico-química con una breve descripción en que consiste y de su desarrollo; para que residuos o contaminantes es aplicable, Se describe la metodología para la detección contaminación microbiana.

En la guía se plantearán los parámetros de desempeño para la validación de métodos de limpieza, con el procedimiento a seguir para su desarrollo y sus criterios de aceptación.

Los parámetros de desempeño a evaluar para la validación de métodos de limpieza son:

- Precisión del sistema
- Linealidad del sistema
- Especificidad
- Estabilidad del residuo
- Eficiencia del recobro
- Precisión intermedia
- Estabilidad de la respuesta analítica de la muestra
- Límite de detección
- Límite de cuantificación.
- Tolerancia

Al final se recopilarán los datos y resultados obtenidos de los análisis para la elaboración del informe final.

**Elaboración del informe, conclusiones, revalidación:** al finalizar la fase práctica de la validación del método de limpieza, se recopilarán los datos y con ellos se elabora un informe en el cual se da el dictamen de la validación del método de limpieza; se establecerá la frecuencia de revalidación y en qué casos se debe validar.

**GUÍA TÉCNICA PARA LA VALIDACIÓN DE MÉTODOS DE LIMPIEZA  
EN EQUIPOS UTILIZADOS EN LA FABRICACIÓN DE LÍQUIDOS  
ORALES NO ESTÉRILES**



Elaborada por: Mayra Jeannette Ascencio Cruz  
Noviembre de 2014

## 1. Introducción

La validación de métodos de limpieza ha tomado auge desde hace algunos años, ya que es la prueba documental de que los métodos de limpieza y sanitización son reproducibles y que reducen a niveles aceptables los residuos químicos y microbianos presentes en una determinada superficie. El objetivo de la validación de limpieza es comprobar que un equipo, o una línea de producción está libre de producto, agentes de limpieza, sanitizantes y microorganismos en niveles aceptables y que el tratamiento es seguro y no promueve otras posibles contaminaciones.<sup>(6)</sup>

No existen métodos normalizados para la limpieza de áreas o equipos, puesto que los libros oficiales o las Normas no especifican como debe realizarse la limpieza, de ahí la vital importancia de validarla.

La fabricación de los medicamentos es una tarea compleja y requiere de personal calificado no solo profesional, sino también técnico, ya que hasta la labor más pequeña demanda personal con alto nivel de formación en el correcto desarrollo de su trabajo. El personal operativo es el que se encuentra mayor tiempo en contacto con el producto, por lo tanto constituyen una pieza fundamental para lograr la optimización de la calidad en la elaboración y calidad de los medicamentos.

El objetivo principal de esta guía es el de orientar en el proceso de validación de limpieza, para poder definir los límites aceptables de residuos, establecer criterios para definir los parámetros de desempeño a evaluar en el desarrollo del proceso de acuerdo a la metodología utilizada.

## **2. Objetivos**

- 2.1 Orientar en el proceso de validación de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales no estériles.
- 2.2 Brindar criterios para establecer el protocolo de validación de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales no estériles.
- 2.3 Brindar criterios para establecer el límite de residuo de activo permitido después de la realización de la limpieza en los equipos de fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.

## **3. Alcance**

Esta guía está orientada para aquellos laboratorios, que fabrican formas farmacéuticas orales no estériles tales como: Jarabes, suspensiones, elixires, soluciones y emulsiones; para todos los métodos de limpieza en equipos elaborados de acero inoxidable: Tanques de doble fondo, tanques, molinos coloidales, llenadoras, dosificadoras, agitadores y todo aquel que tenga contacto directo con el producto.

## **4. Responsabilidades**

Es responsabilidad del Laboratorio Fabricante cumplir con la presente Guía y comprenderá al personal designado por el mismo.

## 5. Definiciones

**Guía técnica:** documento que se ha establecido para poder encaminar en un determinado proceso, en esta se establece como deben realizarse ciertas pruebas y que criterios deben tomarse.<sup>(14)</sup>

**Validación:** es el establecimiento de una evidencia documentada que suministra un alto grado de seguridad, de que un proceso específico elaborará en forma permanente un producto que cumple unas características y especificaciones de calidad predeterminadas.<sup>(13)</sup>

**Limpieza:** es el proceso de separación por medios físicos, mecánicos, o químicos de la suciedad depositada en los equipos utilizados en la fabricación de medicamentos.

**Validación de limpieza:** es el proceso de establecimiento de pruebas documentales de que un procedimiento de limpieza específico reducirá los residuos de la superficie de los equipos a un nivel predeterminado aceptable.

**Protocolo de validación de limpieza:** documento previo que sirve como base de trabajo para llegar a establecer un método de limpieza rutinario.

**Áreas de fabricación de líquidos orales no estériles:** son todas aquellas áreas que cumplen con los requerimientos según la Guía de Buenas prácticas de manufactura, para fabricar formas farmacéuticas líquidas: soluciones, jarabes, suspensiones y emulsiones, que se administran de forma oral. <sup>(13)</sup>

## **Abreviaturas**

**AC:** área compartida, generalmente expresada en  $\text{cm}^2$ .<sup>(11)</sup>

**DM:** Dosis máxima diaria de una sustancia activa.<sup>(11)</sup>

**DT:** Dosis terapéutica de una sustancia activa.<sup>(11)</sup>

**LAR:** Límite de aceptación del residuo. <sup>(11)</sup>

**LAAR:** Límite analítico de aceptación del residuo. <sup>(11)</sup>

**LC:** Límite de cuantificación. <sup>(11)</sup>

**LD:** Límite de detección. <sup>(11)</sup>

**LL:** Límite de residuo en un lote de producto. <sup>(11)</sup>

**SAL:** Cantidad de sustancia activa por lote de fabricación. <sup>(11)</sup>

## **6. REQUISITOS GENERALES**

### **6.1 Establecimiento del Protocolo de Validación**

Lo fundamental en toda validación es establecer el Protocolo respectivo, y la validación de métodos de limpieza no es la excepción, este documento será la guía dentro de todo el proceso.

Debe contener información correspondiente al método de limpieza que se pone a prueba, engloba las responsabilidades y describe la forma práctica de la realización de la validación del método de limpieza, agrupa los métodos de toma de muestra, métodos de análisis, dentro del alcance de este, debe incluirse un listado de los productos que se incluyen en el estudio, por el hecho de que tienen contacto directo con el equipo y comparten área de contacto entre sí.

El procedimiento de limpieza a ponerse a prueba, debe estar redactado de una forma clara, concisa, bien definido, de forma tal que el operario lo comprenda, para su ejercicio y aplicación.

En el protocolo de validación del método de limpieza debe justificarse la elección del método de toma de muestra, con los procedimientos necesarios para su realización, para demostrar que los contaminantes pueden removerse de la superficie del equipo en estudio, también los puntos de toma de muestra.

Además en el protocolo debe incluirse metodología analítica validada para la cuantificación de los residuos y debe proveer una medida que se correlaciona a una concentración del contaminante.

## **6.2 PROCEDIMIENTOS DE TOMA DE MUESTRA<sup>(6)</sup>**

Deben definirse los métodos de toma de muestra para el propósito deseado, para fines físico-químicos y microbiológicos, cabe mencionarse que para la validación de métodos de limpieza de equipos deben utilizarse los 2. Puesto que se evaluará el procedimiento de limpieza y nunca puede dejarse de lado la parte microbiológica de la físico-química o viceversa.

Respecto al número de muestras que se tomarán, esto dependerá de los puntos críticos (hots spots) que se hayan establecido; por ejemplo en una máquina o equipo pueden haberse determinado 3 puntos críticos, en otra máquina u equipo pueden haber 12, 8, es bastante variable y obedecerá a factores como el diseño del equipo u máquina, la superficie que tenga contacto directo con el producto. También en algunos casos el número de muestras estará dado por los parámetros de desempeño a evaluar.

A continuación se mencionan y diferencian los procedimientos de toma de muestra para cada caso y posteriormente una breve descripción de cómo deben aplicarse:

Para detectar contaminación físico-química:

- Método del Hisopado
- Método por Inmersión
- Método del enjuagado

Para detectar contaminación microbiológica:

- Método del Hisopado
- Método de Inmersión
- Método de placas de contacto
- Toma de muestra del agua o disolvente del lavado final
- Método de sedimentación sobre placas estáticas

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra por el método del hisopado para detectar contaminación físico-química	Página 1 de 2	
<p>1. <b>Objetivo:</b> Definir los lineamientos para la correcta toma muestra para la detección de contaminación físico-química por el método del hisopado en los equipos utilizados para la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.</p> <p>2. <b>Alcance:</b> Aplica a equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas no estériles, cuya toma de muestra está establecida por el método del hisopado</p> <p>3. <b>Responsabilidades:</b> Personal asignado y capacitado para la toma de muestra por el método del hisopado.</p> <p>4. <b>Materiales e insumos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Recipientes para la muestra</li> <li>- Elemento de remoción (hisopos, paños)</li> <li>- Solvente adecuado para la muestra según el residuo de interés</li> </ul>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra por el método del hisopado para detectar contaminación físico-química		Página 2 de 2
<p><b>5. Procedimiento de Operación:</b></p> <p><b>5.1 Toma de muestra por el método del hisopado</b></p> <p>5.1.1 En los puntos definidos previamente de la superficie del equipo de fabricación, en un área de 25 cm<sup>2</sup> tomar la muestra.</p> <p>5.1.2 Con el elemento de remoción (pañó, hisopo) previamente humedecido con el solvente adecuado para el residuo, estriar en los siguientes sentidos: formando zigzags de izquierda a derecha en diagonal y luego de la misma forma de derecha a izquierda.</p> <p>5.1.3 Sumergir el elemento de remoción (pañó, hisopo) en el solvente adecuado utilizado anteriormente para humedecerlo, colocar en el contenedor u recipiente para su traslado y posterior análisis.</p>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestras especiales para detectar contaminación fisicoquímica (método por inmersión y método por enjuagado)		Página 1 de 2
<ol style="list-style-type: none"> <li>1. <b>Objetivo:</b> Definir los lineamientos de toma de muestra especiales para la detección de contaminación físico-química en los equipos utilizados para la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.</li> <li>2. <b>Alcance:</b> Aplica para equipos dosificadores (llenadoras de líquidos) con piezas desmontables y no desmontables.</li> <li>3. <b>Responsabilidades:</b> Personal asignado y capacitado para la toma de muestra especial de equipos dosificadores.</li> <li>4. <b>Materiales e insumos:</b> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Contenedor adecuado para la muestra</li> <li>- Agua o solvente adecuado para el residuo de interés</li> </ul> </li> </ol>		

Logo del laboratorio	<p style="text-align: center;"><b>PROCEDIMIENTO</b></p> <p>Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)</p>	Código del procedimiento
<p>Título: Procedimiento para la toma de muestras especiales para detectar contaminación fisicoquímica. (método por inmersión y método por enjuagado)</p>		Página 2 de 2
<p><b>5. Procedimiento de operación</b></p> <p><b>6.3 Método por Inmersión:</b> Partes desmontables.</p> <p>6.3.1 Desmontar del equipo o máquina, las piezas dosificadoras.</p> <p>6.3.2 Sumergir las piezas en una solución hidroalcohólica.</p> <p>6.3.3 Dejar el tiempo adecuado y en agitación, para que el residuo de interés se deposite en la solución.</p> <p>6.3.4 Tomar una muestra representativa de la solución hidroalcohólica para su posterior análisis y cuantificación.</p> <p><b>5.2 Método por Enjuagado</b></p> <p>5.2.1 Enjuagar o pasar agua a los elementos dosificadores</p> <p>5.2.2 Tomar la muestra de las primeras fracciones obtenidas del enjuague en un recipiente adecuado para su posterior análisis y cuantificación.</p> <p>5.2.3 Realizar la cuantificación en estas muestras.</p>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra del aire ambiental y de las superficies de paredes y suelos para detectar contaminación físico-química		Página 1 de 2
<p><b>1. Objetivo:</b> Definir los lineamientos de toma de muestra del aire ambiental y de las superficies de paredes y suelos para la detección de contaminación físico-química.</p> <p><b>2. Alcance:</b> Aplica en todas aquellas áreas donde se fabrican líquidos orales no estériles, en las superficies (paredes, suelo) y aire ambiental.</p> <p><b>3. Responsabilidades:</b> Personal asignado y capacitado para la toma de muestra de aire y superficies.</p> <p><b>4. Materiales e insumos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hisopos</li> <li>- Solvente adecuado según el principio activo</li> <li>- Contenedores ( tubos de ensayo u otro con tapa)</li> </ul>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra del aire ambiental y de las superficies de paredes y suelos para detectar contaminación físico-química		Página 2 de 2
<p><b>5. Procedimiento de operación</b></p> <p><b>5.1 Métodos especiales de toma de muestra del aire ambiental y de las superficies de paredes y suelos</b></p> <p>En el caso de instalaciones destinadas a la fabricación de productos tóxicos, hormonales, citostáticos, sensibilizantes, etc., o si existe la posibilidad de contaminación cruzada con el aire ambiental de otros locales de la planta, puede ser necesario muestrear al aire (técnica de impactación sobre filtros de membrana cuya porosidad oscila entre 0.1 <math>\mu\text{m}</math> – 1 <math>\mu\text{m}</math>) y las superficies de paredes y suelos (hisopado).</p>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra por hisopado para detectar contaminación microbiológica		Página 1 de 2
<p><b>1. Objetivo:</b> Definir los lineamientos para la correcta toma de muestra por hisopado el método del hisopado, con el propósito de detectar contaminación microbiológica en los equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.</p> <p><b>2. Alcance:</b> desde la descripción de las actividades para la correcta toma de muestra por el método del hisopado con el propósito de detectar contaminación microbiológica en los equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas no estériles.</p> <p><b>3. Responsabilidades:</b> el equipo de Validaciones (conformado por Control de Calidad, Buenas Prácticas de Manufactura, Producción, Investigación y Desarrollo) es el responsable de la toma de muestras.</p> <p><b>4. Materiales e insumos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Hisopos estériles</li> <li>- Solvente estéril</li> <li>- Placas Rodac</li> <li>- Suero fisiológico (solución salina)</li> <li>- Medios específicos para el microorganismo a cuantificar</li> <li>- Recipientes para tomar muestras</li> </ul>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
	Título: Procedimiento para la toma de muestra por el método del hisopado para detectar contaminación microbiológica	Página 2 de 2
<p><b>5. Procedimiento de Operación</b></p> <p><b>5.1 Toma de muestra por hisopado</b></p> <p>5.1.1 En los puntos definidos previamente, en un área de 25 cm<sup>2</sup> proceder a muestrear.</p> <p>5.1.2 Con el hisopo previamente humedecido con suero fisiológico, estriar en los siguientes sentidos: formando zigzags de izquierda a derecha en diagonal y luego de la misma forma de derecha a izquierda</p> <p>5.1.3 Sumergir el hisopo en suero fisiológico</p> <p>5.1.4 Verter en la placa adecuada según método de análisis microbiológico, de acuerdo al propósito (Recuentos totales de bacterias, Recuento total de Hongos y levaduras, Coliformes, etc)</p>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra por método de inmersión para detectar contaminación microbiológica		Página 1 de 2
<p>1. <b>Objetivo:</b> Definir los lineamientos para la correcta toma de muestra por el método de inmersión, con el propósito de detectar contaminación microbiológica en los equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas orales no estériles.</p> <p>2. <b>Alcance:</b> desde la descripción de las actividades para la correcta toma de muestra por el método de inmersión con el propósito de detectar contaminación microbiológica en los equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas líquidas no estériles.</p> <p>3. <b>Responsabilidades:</b> el equipo de Validaciones (conformado por Control de Calidad, Buenas Prácticas de Manufactura, Producción, Investigación y Desarrollo) es el responsable de la toma de muestras.</p> <p>4. <b>Materiales e Insumos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Solvente estéril</li> <li>- Suero fisiológico (solución salina)</li> <li>- Recipientes para tomar muestras</li> </ul>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra por método de inmersión para detectar contaminación microbiológica.		Página 2 de 2
<p><b>5. Procedimiento de Operación</b></p> <p><b>5.1 Método de Inmersión</b></p> <p><b>5.1.1</b> Desmontar las partes del equipo que es posible desmontar y que tienen contacto directo con el producto.</p> <p><b>5.1.2</b> Sumergir en un volumen conocido de suero fisiológico por un tiempo considerable.</p> <p><b>5.1.3</b> Sembrar directamente sobre las placas o filtrar mediante una membrana de 0.45 <math>\mu</math> que posteriormente se incubará</p>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra para superficies para detectar contaminación microbiológica		Página 1 de 3
<p>1. <b>Objetivo:</b> Definir los lineamientos para la correcta toma de muestra por el método de Placa de contacto para la detección de contaminación microbiológica.</p> <p>2. <b>Alcance:</b> Desde la descripción de las actividades para la toma de muestra en superficies para la detección de contaminación microbiológica.</p> <p>3. <b>Responsabilidades:</b> el equipo de Validaciones (conformado por Control de Calidad, Buenas Prácticas de Manufactura, Producción, Investigación y Desarrollo) es el responsable de la toma de muestras.</p> <p>4. <b>Materiales e Insumos:</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Placas Rodac</li> <li>- Laminocultivos</li> <li>- Placas Petrifilm</li> <li>- Disolvente estéril</li> </ul>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra de superficies para detectar contaminación microbiológica		Página 2 de 3
<p><b>5. Procedimiento de Operación.</b></p> <p><b>5.3 Método con placas de Contacto</b></p> <p>Aquí se pueden utilizar varios tipos de placa: Rodac, Petrifilm, Laminocultivo. La placa Rodac es una placa Petri modificada que contiene medio de cultivo sólido y cuya superficie es ligeramente convexa. Una variante es el laminocultivo, con el medio depositado sobre una lámina rectangular. El petrifilm consiste en una doble película que contiene medio deshidratado en su interior.</p> <p><b>5.1.1</b> Colocar la placa en la superficie de interés, hacer presión, manteniéndola inmóvil.</p> <p><b>5.1.2</b> Cerrar e invertir la placa para su posterior incubación a temperatura y tiempo adecuados según su medio y determinación realizada.</p> <p><b>5.1.3</b> Limpiar la superficie para evitar contaminación posterior.</p> <p><b>5.3 Toma de muestra del agua o disolvente de lavado final</b></p> <p><b>5.2.1</b> Tomar muestra de un volumen conocido de agua o disolvente de lavado final en un recipiente esterilizado a 250° C en calor seco por una hora.</p> <p><b>5.2.2</b> Filtrar por membrana de 0.45 µm para su posterior vertido en las placas correspondientes.</p>		

Logo del laboratorio	PROCEDIMIENTO	Código del procedimiento
	Departamento de (Control de Calidad, Aseguramiento de la Calidad)	
Título: Procedimiento para la toma de muestra de superficies para detectar contaminación microbiológica		Página 3 de 3
<p><b>5.3 Método de sedimentación sobre placas estáticas</b></p> <p><b>5.3.1</b> Emplear Placas de Petri de 60 o 150 cm<sup>2</sup> con el medio de cultivo sólido.</p> <p><b>5.3.2</b> Exponer destapada de 1 a 4 horas</p>		

### **6.3 MÉTODOS ANALÍTICOS<sup>(6)</sup>**

Es importante que estos métodos analíticos estén previamente validados. Debe prestarse atención especial a los límites de cuantificación y detección.

Las cantidades de residuos o contaminantes en la validación de limpieza son bastante bajas del orden ppm o ppb, lo que a veces dificulta el desempeño del método. Los métodos cromatográficos por ejemplo tienen ventaja por sobre los métodos como TOC, o Espectrofotometría UV-Vis, los métodos cromatográficos son más específicos.

El límite de residuo aceptable adoptado para el contaminante debe estar dentro del límite de cuantificación de la metodología empleada y tal límite de cuantificación debe haber sido probado en cuanto a su precisión y exactitud.

Se seleccionan en base a los contaminantes que se desee monitorear, por ejemplo la espectrofotometría UV-Vis ha sido usada mucho en el análisis de detergentes, empleando a veces métodos colorimétricos; se debe evaluar la longitud de onda seleccionada para el contaminante o residuo en estudio, comprobando que la misma no sufre interferencias que provengan de otros residuos o de los elementos para la toma de muestra. Debe considerarse que para la validación de métodos de limpieza deben tomarse en cuenta los distintos tipos de contaminación: la físico-química y la contaminación microbiológica, para llevar a cabo un estudio completo.

La contaminación del tipo físico-químico se monitoreara por los siguientes métodos:

#### **6.3.1 Métodos físicos y sensoriales: <sup>(6)</sup>**

Estos métodos son muy útiles, pues nos ofrecen un escenario previo de la limpieza en sí, son fáciles y de bajo costo, de mucha ayuda, cuando evaluamos por ejemplo residuos de detergente; en otros casos el control visual, es suficiente para la verificación de la limpieza, aunque tiene sus limitantes como

que el material del equipo debe contrastar con el residuo o contaminante para poderlo detectar o que es un criterio demasiado subjetivo; no obstante este debería de ser un control rutinario en la verificación o chequeo de la limpieza.

#### **6.3.1.1 Control organoléptico y visual del equipo o de partes del equipo que se desmontan para realizar este control.<sup>(6)</sup>**

Dependiendo del tipo de suciedad, la cantidad de contaminante presente en una superficie que no supera el control organoléptico es del orden de 4 – 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$  (equivalentes a 100 – 500  $\mu\text{g}/25 \text{ cm}^2$ ). Una superficie limpia, tanto si está seca como si está húmeda, no debe contener ninguna materia extraña cuando se comprueba por alguno de los siguientes sistemas:

- No debe ser untuoso al tacto.
- Al frotar con un pañuelo de celulosa o un trozo de algodón, no deben aparecer restos de suciedad.
- Debe ser prácticamente inodora.

#### **6.3.1.2 Control del agua del último lavado o enjuague a efectos de validación<sup>(6)</sup>**

- Métodos visuales: control de partículas visibles y de turbidez o espuma
- Métodos instrumentales: conteo de partículas inferiores a 50  $\mu\text{m}$  por microscopio o contador de partículas.

### **6.3.2 Métodos químicos y físico-químicos<sup>(6)</sup>**

#### **6.3.2.1 Métodos cuantitativos específicos**

De no haber interferencias importantes debidas a la naturaleza de la muestra, se pueden emplear métodos poco selectivos como espectrofotometría UV-Vis, fluorimetría, polarografía, o métodos electroanalíticos.

Una manera posible de poder utilizar cualquiera de estos métodos, es que para el principio activo con el que se trabaja o que se quiere detectar, los libros

oficiales dicten que por ese método se realice el ensayo, o que el laboratorio ya haya desarrollado esa metodología para este activo en específico, y no se realice el ensayo según libros oficiales.

Si existen interferencias se deben utilizar métodos cromatográficos que son mucho más selectivos como: cromatografía de capa fina, cromatografía de gases o cromatografía líquida.

En caso de que el analito sea una sustancia inorgánica es posible espectroscopía de absorción atómica; como podría aplicarse para las soluciones o jarabes de sales de hierro, sales de calcio, zinc u otras que son parte de la fórmula en multivitamínicos.

Los métodos cuantitativos deben estar validados por tratarse de un análisis de trazas los parámetros fundamentales a determinar serán la especificidad, límite de cuantificación, también la linealidad y precisión.

#### **6.3.2.2 Métodos cuantitativos poco específicos<sup>(6)</sup>**

Existen otros métodos que no son específicos en el sentido en que no determinan a un analito determinado, que son fáciles de realizar y en muchos casos son suficientes.

- Análisis de Carbono orgánico total. (TOC) detecta partes por billón de analito (ppb), pero su uso se limita a muestras solubles en agua, se puede utilizar en muestras del agua de enjuague de los equipos.
- Sólidos totales: Material no volátil orgánico e inorgánico presente en las aguas de enjuague o muestras de hisopo, esta información es muy limitada debido a su inespecificidad.
- pH: detecta presencia de residuos ácidos o alcalinos en las aguas de enjuague, esta determinación es muy útil para el control de residuos de detergente.

- Osmolalidad o Conductividad. Detectan la presencia de los residuos de sustancias iónicas en medio acuoso. Este análisis se podría utilizar por ej: con medicamentos con sales metálicas, como el Hierro.  
Todas estas metodologías se pueden aplicar aparte de los métodos cualitativos y los más específicos, los resultados con estas nos darán un indicio de los residuos que pueden quedar, si hay o no, con este conocimiento previo podemos avanzar en la validación.

### 6.3.3 Métodos cualitativos<sup>(6)</sup>

Se utilizan para detectar la presencia de restos de detergentes o agentes sanitizantes junto con los ya comentados de pH y conductividad. Son reacciones de coloración o precipitación específicas que varían en función de los agentes a investigar.

Deben validarse para los parámetros especificidad y límite de detección. Las reacciones que no sean suficientemente sensibles no deben utilizarse. Por ejemplo:

- **Reacciones de precipitación:** los detergentes fosfatados dan positivo a la reacción con sales de bario o nitrato de plata, etc.
- **Reacciones de coloración:** los detergentes fosfatados dan positivo a la reacción con azul de molibdeno, los sanitizantes yodados dan positivo con almidón soluble, los sanitizantes clorados dan positivos con ortotoluidina, etc.

Es necesario comprobar de que la limpieza es tan eficiente como para reducir la contaminación microbiana de las superficies y para asegurar que en la rutina de producción y de la limpieza no suceda la proliferación de microorganismos. Tomando en cuenta este otro tipo de contaminación podemos definir, cuanto es el tiempo máximo en que los equipos pueden estar sucios, el período de validez del equipo limpio para su uso.

La desinfección también es uno de los puntos clave para la limpieza, puesto que esta parte del proceso de limpieza, disminuye la carga microbiana en el equipo y elimina microorganismos patógenos. Por ello se recomienda seguir métodos específicos para el análisis microbiológico, algunos se detallan y describen a continuación:

#### **6.3.4 Métodos analíticos para determinar contaminación microbiológica<sup>(6)</sup>**

**1. Aislamiento de colonias:** Las muestras procedentes del muestreo de superficies (placas de contacto, hisopos), de inmersión, agua de lavado y ambiente se incuban directamente o bien tras filtración por membrana según los casos.

#### **2. Identificación cualitativa de los microorganismos patógenos**

Las colonias sospechosas se identificarán por procedimientos específicos. Como gérmenes indicadores de patogenicidad interesan especialmente:

- Staphylococcus aureus.
- Escherichia coli.
- Pseudomonas aeruginosa y P. cepacia
- Salmonella spp.
- Candida albicans.

En el caso de aislar repetidamente un mismo tipo de contaminante o, cuando interese investigar un tipo determinado de microorganismos, se utilizarán directamente medios de cultivo y temperaturas de incubación selectivos para dicha especie.

## 6.4 PARÁMETROS DE DESEMPEÑO DE LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA, PROCEDIMIENTOS Y CRITERIOS DE ACEPTACIÓN<sup>(11)</sup>

En la siguiente tabla se indican los parámetros de desempeño a estudiar en función de la aplicación analítica del método de limpieza.

*Tabla nº 2. Parámetros de desempeño a estudiar en función de la aplicación analítica del método de limpieza.<sup>(11)</sup>*

Parametro de desempeño	Contenido de residuo	Limite de residuo	Limite a nivel detectable
Precision del sistema	Si	Si	*
Linealidad del sistema	Si	Si	Si
Especificidad	Si	Si	No
Estabilidad del residuo	**	**	**
Eficiencia del recobro	Si	Si	No
Precision intermedia	Si	No	No
Estabilidad de la respuesta analitica de la muestra	*	*	No
Limite de deteccion	No	Si	Si
Limite de cuantificacion	Si	No	No
Tolerancia	*	*	*
* puede ser requerido dependiendo de la naturaleza del método			
** cuando se requiera			

#### **6.4.1 Precisión del sistema** <sup>(11)</sup>

El estudio de este parámetro, permite determinar la variación asignable principalmente a un instrumento analítico a una concentración baja de una solución de referencia (ppm, ppb) y si ésta es apropiada para el propósito deseado.

- Metodología: El analista preparará por lo menos por sextuplicado, soluciones por dilución o por pesadas independientes a la concentración del residuo LAAR, que en términos relativos representará el 100 % de la muestra procesada para su medición. Medir la respuesta analítica bajo las mismas condiciones. Calcular  $\bar{Y}$ , S y CV de la respuesta analítica.
- Criterio de aceptación:  
CV  $\leq$  2% para métodos físico-químicos.  
CV  $\leq$  3% para métodos biológicos.  
Valores superiores deben ser justificados, cualquier otro criterio de aceptación debe ser justificado.

#### **6.4.2 Linealidad del sistema** <sup>(11)</sup>

Este parámetro permite establecer en un intervalo apropiado de concentraciones, si la relación concentración del residuo - respuesta analítica es lineal; además de llevar a cabo una estimación del límite de detección y/o cuantificación del sistema, que permite su habilidad para determinar el residuo.

- Metodología: El analista preparará por triplicado cinco niveles de concentración de la solución del residuo, ya sea por dilución o por pesadas independientes (cuando no sea posible prepararlas por dilución).

La concentración intermedia será igual a la que se prepara la Solución de Referencia en el método que represente el LAAR (100%).

Determinar la respuesta analítica bajo las mismas condiciones de medición, para el análisis de resultados reportar la relación concentración vs

respuesta analítica, calcular el valor de la pendiente ( $b_1$ ) la ordenada en el origen ( $b_0$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ) y el intervalo de confianza para la pendiente ( $IC(\beta_1)$ ).

Para métodos de contenido se sugiere un intervalo mínimo de 50% a 200% y para métodos límite de 50 a 150%.

- Criterios de aceptación:

$IC(b_1)$  no debe incluir el cero.

Para métodos de contenido de residuo,  $r^2 > 0.98$ . Si  $r^2 < 0.98$  no debe existir falta de ajuste al modelo lineal.

Cualquier otro criterio de aceptación debe ser justificado.

Es conveniente trazar la gráfica concentración (x) vs la respuesta analítica (y) e incluir en ella la ecuación, la línea de ajuste y el coeficiente de determinación.

#### **6.4.3 Especificidad<sup>(11)</sup>**

Estudiar este parámetro permitirá determinar si otros residuos potenciales (principios activos, agentes de limpieza, excipientes, productos intermedios o de degradación) o sustancias como solvente de remoción, materiales del elemento de remoción del residuo (hisopo, paño, tela) del contenedor y de la determinación no interfieren en la respuesta analítica del residuo.

##### **a) Materiales de toma de muestra y análisis de muestra**

- Metodología: simular a nivel de laboratorio por triplicado el método de muestreo en superficie sin residuos y el tratamiento analítico de la muestra.
- Criterio de aceptación: no debe presentar respuesta analítica característica del residuo de interés.

### ***b) Residuos potenciales***

- Metodología: Seleccionar otros residuos de importancia (principios activos, detergentes, excipientes) y preparar al menos por duplicado al nivel de concentración esperado en el solvente de remoción en función del proceso de limpieza, combinado con el residuo de interés. Aplicar a las muestras el método analítico del residuo.
- Criterio de aceptación: la respuesta del método únicamente debe ser debida al residuo o debe ser aditiva.

### **6.4.4 Estabilidad del residuo<sup>(11)</sup>**

Es sumamente importante establecer que el residuo se mantiene estable desde el proceso de limpieza hasta su tratamiento analítico, ya que si el residuo no es estable, en ciertos casos puede invalidar el método.

#### ***a) Para el proceso de limpieza***

Este parámetro no es necesario determinarlo cuando el proceso de limpieza está diseñado para degradar el residuo ( $\beta$ -lactámicos, endotoxinas, entre otros).

- Metodología: simular al menos por triplicado a nivel de laboratorio la interacción del agente de limpieza con el residuo de interés y agente de limpieza con producto, si aplica, que se presente durante el proceso de limpieza (cantidad del residuo, cantidad del producto, cantidad del agente de limpieza, solvente, temperatura, tiempo de contacto, agitación, entre otros). Diluir con el solvente de muestreo a la concentración que represente el 100% del SR en linealidad del sistema y preparar la SR al 100% simultáneamente. Aplicar el sistema de medición tal y como lo indica el método.

- Criterio de aceptación: la respuesta analítica del residuo en las muestras simuladas no debe disminuir de manera importante respecto a la respuesta del SR.

**b) Para el proceso de toma de muestra**

Es importante investigar la estabilidad del residuo al momento del muestreo, almacenaje y su tratamiento analítico. Es deseable evaluar la estabilidad para establecer condiciones apropiadas de almacenaje (tipo y tiempo) de la muestra. Este estudio permite establecer si el tratamiento analítico de la muestra tiene que ser de inmediato o si es posible almacenar la muestra a ciertas condiciones y un tiempo permitido antes de su análisis.

Puede omitirse siempre que el análisis se realice inmediatamente o se justifique de manera científica y racional la estabilidad de la muestra.

- Metodología:

**Para toma de muestra por hisopado o equivalente:** disolver el residuo en el solvente de remoción a una concentración adecuada. Adicionar por triplicado, un volumen apropiado al material de elemento de remoción (hisopo, paño, tela) de tal forma que en dicho volumen tenga la cantidad de residuo a muestrear de la superficie. Transferir al contenedor de la muestra según el método de muestreo y proceder como lo indica el método analítico del residuo para su determinación. (Tiempo inicial)

Establecer las condiciones de almacenaje a ser estudiadas, por ejemplo: refrigeración 6 horas, condiciones de laboratorio 8 horas, condiciones de laboratorio 24 horas. Disolver el residuo en el solvente de remoción a una concentración apropiada. Adicionar por triplicado un volumen apropiado al material del elemento de remoción (punta del hisopo, paño, tela) de tal forma que en esa dilución se encuentre la concentración de residuo a muestrear de la superficie. Transferir al contenedor de la muestra según el método de muestreo y proceder como indica el método de análisis del residuo para cada condición de almacenaje.

***Para toma de muestra de agua de enjuague o solvente recirculado:***

Disolver el residuo en el solvente de remoción a una concentración y volumen apropiados en función de la cantidad de residuo a muestrear de la superficie.

Transferir el volumen indicado al contenedor de la muestra según método de muestreo y proceder a determinar el residuo según el método analítico (tiempo inicial).

Establecer las condiciones de almacenaje a ser estudiadas, por ejemplo, refrigeración 6 horas, condiciones de laboratorio 8 horas, condiciones de laboratorio 24 horas. Disolver el residuo en el solvente de remoción a una concentración y volumen adecuados en función de la cantidad de residuo a muestrear de la superficie. Transferir el volumen indicado al contenedor de la muestra según método de muestreo y proceder a determinar el residuo según el método analítico para cada condición de almacenaje.

Para métodos límite reportar la propiedad medida de las muestras y de la SR para la determinación inicial y a las diferentes condiciones de almacenaje.

Para métodos de contenido calcular la media aritmética de la determinación inicial ( $\bar{Y}_0$ ) de cada condición de almacenaje, ( $\bar{Y}_i$ ). Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada condición respecto al tiempo inicial. ( $|d_i|$ )

- Criterio de aceptación:

Para métodos límite:

La respuesta analítica del residuo en la muestra debe ser similar a la de la SR a tiempo inicial y a cada condición de almacenaje.

Para métodos de contenido:

$|d_i| \leq 2\%$  para métodos cromatográficos y volumétrico

$|d_i| \leq 3\%$  para métodos químicos o espectrofotométricos.

$|d_i| \leq 5\%$  para métodos biológicos.

No mayor a una magnitud preestablecida acorde a la especificación del residuo en la muestra.

Cualquier otro criterio de aceptación debe ser justificado.

#### **6.4.5 Eficiencia del Recobro<sup>(11)</sup>**

Este parámetro permitirá investigar el tipo y la magnitud de la relación entre la cantidad adicionada de residuo a la superficie y la cantidad que se recupera, utilizando un determinado método de toma de muestra para una superficie en específico (hisopo, solvente recirculado, agua de enjuague).

Esta información puede ser utilizada para:

- a) Modificar la cantidad de la SR
- b) Utilizar un factor de corrección para el contenido del residuo en la superficie.
- c) Modificar el LAR en la superficie
- d) Modificar el LAAR.
- e) Establecer el límite de cuantificación y/o detección del conjunto método de muestreo – método analítico.

En el caso de varios tipos de materiales de superficies, este estudio puede ser llevado a cabo, bajo la situación del caso conservador y ser justificado.

- Metodología:

##### ***Toma de muestra con hisopo o similar:***

Seleccionar 3 niveles del residuo (límite inferior, límite aceptable, límite superior) Para cada nivel del residuo en al menos 3 porciones de área definida en el método de muestreo, adicionar la cantidad de residuo por un

mecanismo apropiado, como puede ser un volumen de la solución de residuo en un solvente volátil (para facilitar su evaporación), u otro mecanismo de adición.

El procedimiento anterior debe ser reproducido para los 2 otros niveles de residuo. De cada porción remover el residuo como lo indica el método de muestreo y determinarlo según el método analítico.

***Toma de muestra del agua de enjuague o solvente recirculado:***

Seleccionar 3 niveles del residuo: límite inferior, límite aceptable y límite superior. Para cada nivel de residuo en al menos en 3 recipientes o contenedores, o partes que simulen la superficie del equipo de interés. Adicionar la cantidad de residuo por un mecanismo apropiado en el área definida en el método de muestreo, como puede ser un volumen de una solución del residuo en un solvente volátil (para facilitar la evaporación) u otro mecanismo de adición. El procedimiento anterior debe ser reproducido para los otros 2 niveles de residuo. Remover el residuo tal como lo indica el método de muestreo y determinarlo según el método analítico. En la tabla 3 se sugieren el valor de los niveles (%) del residuo, como intervalo mínimo en función del propósito del método.

**Tabla 3. Intervalo mínimo del residuo en estudios de eficiencia del recobro.**

<b>Propósito</b>	<b>Límite inferior</b>	<b>Límite aceptable de residuo</b>	<b>Límite superior</b>
Contenido de residuo	50%	100%	200%
Límites de residuo	50%	100%	200%

Para el análisis de los resultados del estudio, reportar la relación adicionada vs. Cantidad recuperada según sea el caso.

Utilizando el método de estimación por mínimos cuadrados, calcular el valor de la pendiente ( $b_1$ ), la ordenada en el origen ( $b_0$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), el coeficiente de variación de regresión ( $CV_{y/x}$ ), el intervalo de confianza para la pendiente ( $IC(\beta_1)$ ) y, el intervalo de confianza para la ordenada al origen ( $IC(\beta_0)$ ).

Es conveniente trazar la gráfica de la cantidad ( $x$ ) vs. la cantidad ( $y$ ), e incluir la ecuación, la línea de mejor ajuste y el coeficiente de determinación.

- Criterios de aceptación:

El  $IC(\beta_1)$  no debe incluir el cero.

Para métodos de contenido de residuo  $r^2 \geq 0.98$ . Si  $r^2 < 0.98$  no debe existir falta al ajuste al modelo lineal.

El  $CV_{y/x}$  no debe ser mayor a:

- a) 3 % si el LAAR está expresado en unidades de mg/mL
- b) 8 % si el LAAR está expresado en unidades de  $\mu\text{g/mL}$
- c) 20 % si el LAAR está en unidades ng/mL

Cualquier otro criterio de aceptación debe ser justificado.

#### 6.4.6 Precisión intermedia<sup>(11)</sup>

Este estudio permite establecer la tolerancia del método a corridas analíticas (días de análisis) y analistas. El estudio debe ser aplicado al tratamiento analítico de la muestra y no incluir el método de muestreo.

- Metodología:

**Toma de muestra con hisopo o similar:** Según el método de muestreo por un mecanismo apropiado adicionar al elemento de muestreo (hisopo, paños)

la cantidad de residuo en función del LAAR o su valor modificado (literal 5.3.1.5) y transferir a su contenedor según lo establezca el método de muestreo. Llevar a cabo este procedimiento por triplicado. Determinar el residuo según el método analítico. La metodología debe ser aplicada por 2 analistas diferentes en días diferentes.

***Toma de muestra de agua de enjuague o solvente recirculado:*** Preparar 3 soluciones del residuo por pesadas independientes al LAAR y determinarlo según el método analítico.

Esta metodología debe ser aplicada por 2 analistas distintos en 2 días diferentes.

Según sea la determinación, para el análisis de los resultados calcular la media aritmética ( $\bar{y}$ ), la desviación estándar (S), y el coeficiente de variación (CV) de los 12 contenidos del residuo.

- Criterio de aceptación: El  $CV_{y/x}$  no debe ser mayor a:
  - a) 3% si el LAAR está en unidades de mg/mL
  - b) 8% si el LAAR está en unidades de  $\mu\text{g/mL}$
  - c) 20% si el LAAR está en unidades de ng/mL

Cualquier criterio de aceptación mayor, debe ser justificado.

#### **6.4.7 Estabilidad de la Respuesta Analítica.<sup>(11)</sup>**

Este estudio debe ser llevado a cabo para métodos analíticos en los cuales la respuesta no se obtiene de inmediato, como en CLAR, CG, la respuesta puede variar con el tiempo, por consiguiente la determinación del contenido de residuo no será confiable, por lo tanto será necesario establecer el tiempo en el

cual los resultados se mantienen. Se sugiere al menos evaluar la estabilidad de la respuesta analítica en 2 tiempos apropiados.

- Metodología:

**Toma de muestra con hisopo o similar:** Según el método de muestreo por un mecanismo apropiado, adicionar al elemento de remoción del método de muestreo (hisopo, paño) la cantidad del residuo en función del LAAR y transferir a su contenedor según lo establezca el método de muestreo. Llevar a cabo este procedimiento por triplicado y determinar el contenido de residuo según el método analítico, hasta antes de la medición de la respuesta analítica y fraccionar la porción a medir según los tiempos a evaluar, por ejemplo 4, 8, 12 horas, incluyendo la medición inicial. Proseguir con la determinación inicial del residuo. Para cada fracción, al término del tiempo preestablecido, determinar el contenido de residuo utilizando una SR recientemente preparada.

**Toma de muestra de agua de enjuague o solvente recirculado:** Preparar 3 soluciones del residuo por pesadas independientes al LAAR determinar el residuo según el método analítico hasta antes de la medición de la respuesta analítica y fraccionar la porción a medir según los tiempos a evaluar, por ejemplo 4, 8 o 24 horas, incluyendo la inicial. Proseguir con la determinación inicial del contenido de residuo. Para cada fracción, al término del tiempo preestablecido, determinar el contenido del residuo utilizando una SR recientemente preparada. Es importante indicar que la SR recientemente preparada representa la SR al tiempo inicial.

Para el análisis de resultados, calcular la media aritmética de la determinación inicial ( $\bar{y}_0$ ) y de cada tiempo de almacenaje ( $\bar{y}_i$ ). Calcular la diferencia absoluta de la media aritmética de cada tiempo respecto del tiempo inicial ( $|d_i|$ ).

- Criterio de aceptación :  
 $|d_i| \leq 2 \%$  para métodos cromatográficos y volumétricos.  
 $|d_i| \leq 3 \%$  para métodos químicos o espectrofotométricos.  
 $|d_i| \leq 5 \%$  para métodos biológicos  
No mayor a una magnitud preestablecida, acorde a la especificación del residuo en la muestra.  
Cualquier otro criterio de aceptación, debe ser justificado.  
Los resultados pueden ser analizados con métodos estadísticos apropiados como la obtención de intervalos que describen la diferencia de los resultados de un tiempo específico respecto de los resultados iniciales, basados en la distribución de t de Dunnett.

#### **6.4.8 Límite de detección para métodos límite de residuo.**<sup>(11)</sup>

Se sugiere estimarlo en primera instancia con los resultados de eficiencia del recobro (cantidad adicionada – cantidad recuperada de residuo) y en caso de que el método haga uso de un instrumento analítico y que sea posible medir la señal de ruido basal (CLAR, CG, espectrofotómetro) verificarlo por el método de la señal del ruido. El valor verificado debe satisfacer los requerimientos establecidos para el LAAR. Otros procedimientos científicamente sustentados pueden ser utilizados para la determinación del LD.

##### **a) Estimación**

- Metodología: Con los resultados de cantidad adicionada – cantidad recuperada del residuo de la eficiencia del recobro (numeral 5.3.1.5) calcular el valor de la pendiente ( $b_1$ ), la ordenada al origen ( $b_0$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), la desviación estándar de regresión ( $S_{xy}$ ), la desviación estándar de la ordenada al origen ( $S_{b_0}$ ) y el intervalo de confianza para la pendiente (IC ( $\beta_1$ )). Estimar el límite de detección

con las siguientes ecuaciones y reportar el caso conservador (el de mayor magnitud)

$$LD = \frac{3.3 \times S_{y/x}}{b_1}$$

$$LD = \frac{3.3 \times S_{b0}}{b_1}$$

El valor estimado LD debe ser verificado utilizando el procedimiento de la señal de ruido si es necesario (literal a).

- Criterio de aceptación:
  - IC ( $\beta_1$ ), no debe incluir el cero.
  - El LD debe ser menor al LAAR.
  - Cualquier otro criterio de aceptación, debe ser justificado.

#### **b) Verificación**

- Metodología:

Un analista debe determinar la respuesta analítica de al menos 3 muestras blanco (todos los elementos como solvente, elemento de remoción, reactivos y lo que proceda a excepción del residuo) y la respuesta de muestras de al menos por triplicado (residuo + blanco) de diferentes concentraciones del residuo, de preferencia incluyendo el LD estimado. Determinar aquella cantidad menor del residuo que genere una respuesta analítica promedio inmediatamente superior a la respuesta analítica promedio de las muestras blanco en una proporción de al menos 3 a 1, lo que corresponde a la concentración del residuo asociada al LD.
- Criterio de aceptación : El LD debe ser menor al LAAR

#### 6.4.9 Límite de cuantificación <sup>(11)</sup>

Se sugiere en primera instancia estimarlo con los resultados de la eficiencia del recobro (numeral 5.4.5) y en caso de que el método haga uso de algún instrumento analítico y que sea posible medir la señal del ruido basal (CLAR, CG, Espectrofotómetro, entre otros), verificarlo por este método. Otros métodos científicamente sustentados pueden ser utilizados para medir el LC.

##### a) Estimación:

- Metodología: Con los resultados de cantidad adicionada – cantidad recuperada del residuo de la eficiencia del recobro (numeral 5.4.5) calcular el valor de la pendiente ( $b_1$ ), la ordenada al origen ( $b_0$ ), el coeficiente de determinación ( $r^2$ ), la desviación estándar de regresión ( $S_{x/y}$ ), la desviación estándar de la ordenada al origen ( $S_{b_0}$ ) y el intervalo de confianza para la pendiente (IC ( $\beta_1$ )). Estimar el Límite de Cuantificación con las siguientes ecuaciones y reportar el caso conservador (el de mayor magnitud)

$$LC = \frac{10 \times S_{x/y}}{b_1}$$

$$LC = \frac{10 \times S_{b_0}}{b_1}$$

El valor estimado del LC debe ser verificado utilizando el procedimiento de la señal de ruido si es necesario (literal b)

- Criterios de aceptación:  
IC ( $\beta_1$ ), no debe incluir el cero.  
El LC debe ser menor al límite analítico de aceptación del residuo.  
Cualquier otro criterio de aceptación, debe ser justificado.

**b) Estimación:**

- Metodología: Un analista debe determinar la respuesta analítica de al menos 3 muestras blanco (todos los componentes como solvente, elemento de remoción, reactivos y lo que proceda a excepción del residuo) y la respuesta analítica de la muestra al menos por triplicado (residuo + blanco) en un intervalo de concentraciones que incluya de preferencia el LC estimado. Determinar aquella concentración menor del residuo que genere una respuesta analítica promedio inmediatamente superior a la respuesta analítica promedio de la muestra blanco, en una proporción de por lo menos de 10 a 1, lo que corresponde a la concentración del residuo asociada al LC.

**6.4.10 Tolerancia<sup>(11)</sup>**

El estudio de este parámetro permite investigar la influencia de factores independientes al método. Serán establecidos factores como instrumentos, lotes de reactivos, proveedores de solventes, entre otros que se consideren importantes en el desempeño del método analítico.

**a) Métodos de contenido de residuo:**

- Metodología:  
***Para toma de muestra con hisopo o similar:*** según el método de muestreo, por un mecanismo apropiado, adicionar al elemento de remoción del residuo (pañó, hisopo, tela) la cantidad del residuo en función al LAAR y transferir a su contenedor según lo establezca el método de muestreo. Llevar a cabo este procedimiento por triplicado, para cada nivel diferente del factor y determinar el residuo según el método analítico.

***Para toma de muestra de aguas de enjuague o solvente recirculado:***

Preparar 3 soluciones del residuo por pesadas independientes al LAAR y transferir a su contenedor según lo establezca el método de muestreo. Llevar a cabo este procedimiento por triplicado, para cada nivel diferente al factor y determinar el residuo según el método analítico.

Para una u otra metodología reportar el contenido del residuo para cada nivel diferente del factor, como porcentaje en función del LAAR. Para todos los resultados calcular la media aritmética ( $\bar{y}$ ), desviación estándar (S) y el coeficiente de variación (CV).

- Criterio de aceptación:

CV  $\leq$  2 % para métodos cromatográficos y volumétricos.

CV  $\leq$  3 % para métodos químicos y espectrofotométricos.

CV  $\leq$  5 % para métodos biológicos.

Cualquier otro criterio de aceptación, debe ser justificado.

**b) Métodos de límite de residuo.**

Es importante investigar la influencia de los niveles de los factores (diferentes equipos o proveedores de reactivos, según aplique) en la consistencia de los resultados a un nivel superior e inferior apropiado al LAAR.

- Metodología:

***Para toma de muestra con hisopo o equivalente:*** Según el método de muestreo, adicionar por un mecanismo apropiado, al elemento de remoción del residuo (hisopo, paño, tela) una cantidad inferior o superior al LAAR dentro del intervalo estudiado en la eficiencia del recobro. Transferir a su contenedor según lo establezca el método de muestreo. Llevar a cabo este procedimiento por triplicado, para cada nivel diferente del factor y determinar el residuo según el método analítico.

***Para toma de muestra de aguas de enjuague o solvente recirculado:***

Preparar 3 soluciones del residuo por pesadas independientes a un nivel inferior o superior al LAAR, dentro del intervalo estudiado en la eficiencia del recobro, para cada nivel diferente del factor. Transferir cada solución al recipiente correspondiente y según lo establecido en el método de muestreo y proceder a determinar la cantidad de residuo según el método analítico.

Para una u otra metodología reportar el resultado (menor o mayor al LAAR)

- Criterio de aceptación: Los resultados deben ser consistentes para todos los niveles del factor.

## **6.5 LÍMITES DE ACEPTACIÓN DEL RESIDUO<sup>(11)</sup>**

Un enfoque apropiado y útil para el desarrollo y validación del método de limpieza es determinar los límites expresados como cantidad de residuo permitido por unidad de superficie, partiendo del contenido permitido de residuo en los productos que potencialmente puedan contaminar, es decir:

- a) Se define un residuo X proveniente de la fabricación de un producto A, donde X puede estar en contacto con las superficies de los equipos (1, 2, 3...) que se utilizan para su fabricación.
- b) Todos aquellos productos (B, C...) que no contengan X, que compartan superficies de equipos con el producto A, potencialmente pueden ser contaminados de forma cruzada por X.
- c) El límite máximo del residuo X en cada producto (B, C...) puede ser calculado con base en :
  - Propiedades farmacológicas
  - Propiedades toxicológicas

- Referencias regulatorias
- Nivel de 10 ppm

d) Dada la cantidad del lote del producto (B, C...), se debe calcular la cantidad del residuo X permitida para cada lote de producto (B, C...)

e) Dada la superficie de los equipos compartidos (1, 2...) por cada lote de producto (B, C...) el límite máximo del residuo por superficie se obtiene dividiendo la cantidad del residuo X permitida en el producto, respecto al área compartida de los equipos, el cual representa el límite de aceptación del residuo (LAR) y sus unidades son cantidad de residuo/área ( $\text{g/ m}^2$ ,  $\text{mg/cm}^2$ )

(Ver Anexo)

## **6.6 SELECCIÓN FINAL DE LOS PRODUCTOS Y LAS CONDICIONES CON LAS QUE SE REALIZARÁ EL PROTOCOLO.**

En este punto, la selección final productos y las condiciones con los que se realizará la validación dependerá de todos los cálculos y los resultados de esos cálculos, con ellos y en base también a la teoría de la contaminación y bajo la situación del caso conservador del menor valor, como se ejemplifica anteriormente, se tomaran aquellos productos que cumplan esos valores.

Las condiciones serán las que requieran los métodos analíticos ya validados y también según se especifique en los métodos de recolección de muestras.

## **6.7 RECOPIACIÓN DE DATOS, INFORMES Y CONCLUSIONES<sup>(12)</sup>**

Control de Calidad, es en este caso quien ejecuta y desarrolla la Validación de los métodos de limpieza, además de realizar los muestreos o tomas de muestra. Debe establecer formatos para la recopilación de los

datos: desde la toma de muestra, el análisis y procesamientos de esta hasta la obtención de los resultados debe estar registrado.

Por otra parte Garantía de Calidad y/o Validación emitirá un informe con base a los resultados obtenidos de los análisis que Control de Calidad desarrollo.

El contenido mínimo de este debe ser:

- a) Título
- b) Resultados
- c) Análisis de resultados
- d) Tabla comparativa contra los criterios de aceptación
- e) Conclusión o dictamen

Es importante documentar los registros analíticos

La documentación debe estar ordenada, disponible y bajo la responsabilidad del área de calidad.

## **6.8 FRECUENCIA DE VALIDACIÓN Y REVALIDACIÓN<sup>(12)</sup>**

Deben establecerse y justificar criterios apropiados para la revalidación de los métodos de limpieza, así como procedimientos para el control de cambios. Cualquier cambio crítico al método de muestreo o al método de limpieza dará lugar a una validación de limpieza como tal.

Cuando debe ejecutarse una validación:

- a) Validación inicial
- b) Monitoreos de rutina
- c) Cuando un producto (del proceso de limpieza) se reemplaza
- d) Cuando surgen cambios en el proceso de limpieza
- e) Después del mantenimiento, suspensión del trabajo o contaminación
- f) Periódicamente.

## VI. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El contenido general de esta propuesta de Guía es aplicable a equipos y procedimientos de limpieza

Lo primordial al iniciar con este tipo de Validación es tener establecido el procedimiento de limpieza a validar, este debe contener toda la información necesaria sobre el equipo donde se aplicará, los utensilios, productos de limpieza y tipo de agua que se utilizara.

El protocolo de Validación de limpieza se elaboró estableciendo y documentando el respectivo procedimiento de limpieza, los indicadores de limpieza (sustancias de interés), los puntos críticos o partes críticas de tomas de muestra, el método de toma de muestra, una noción de los límites de aceptación de residuo y los métodos analíticos de cómo se cuantificaran dichos residuos.

Los puntos críticos para las tomas de muestra se definen de acuerdo a factores determinantes e intrínsecos de cada equipo como: el diseño, el tamaño, el material, si tiene contacto directo con el producto o no, si este posee válvulas, empaques o cierres, en fin todo aquello que pueda permitir que se deposite los residuos de interés.

Los métodos de toma de muestra tienen sus ventajas y sus limitantes:

**El método de hisopado** es aplicable a una amplia variedad de residuos pero es limitado en cuanto a que se necesitan métodos analíticos de mayor sensibilidad, permite la toma de muestra de un área grande y definida, sin embargo no permite evaluar la limpieza en sitios de difícil acceso. Es adaptable a una gran cantidad de superficies, es fácil y económico aunque el recobro del residuo no es total y los materiales del hisopo pueden interferir en la determinación analítica.

**La toma de muestra por enjuague** es adaptable para tuberías y ductos de difícil acceso pero en algunos casos requiere métodos analíticos con mayor

sensibilidad; es fácil, no invasivo no obstante las muestras no son representativas si el residuo no se encuentra homogéneamente distribuido. Permite muestrear superficies porosas y mayores áreas pero debe aplicarse a componentes o equipos mayores o de mayor tamaño.

**Los parámetros de desempeño** para la Validación de limpieza son específicos para este tipo de validación y son independientes de los que se evalúan para la metodología analítica. La mayoría de estos parámetros están ligados directamente al método de toma de muestra, a los materiales utilizados para la toma de muestra o a los residuos de interés.

**Los métodos analíticos** deben ser bastante sensibles para poder detectar cantidades de ppm o ppb, deben estar previamente validados, de igual forma deben alcanzar un nivel de recobro establecido.

**Los límites de residuo** se definen en base a 4 criterios: propiedades farmacológicas, propiedades toxicológicas, referencias regulatorias y el límite de 10 ppm. También debe hacerse una investigación exhaustiva con las órdenes de producción para de esta forma elegir los productos que también se incluirán en la investigación (validación) debido a que comparten superficie.

El criterio más usado para instaurar los límites aceptables de residuo es eligiendo el “peor de los casos” pudiera ser el principio activo más tóxico (LD<sub>50</sub>) y menos soluble en agua.

Cualquier cambio crítico al método de toma de muestra o método analítico dará lugar a una revalidación.

Además del protocolo de validación de limpieza otros documentos que son críticos que sustentan la investigación son: el plan de prueba (en este se deben incluir los parámetros de desempeño que permiten verificar la aplicación analítica deseada), los formatos de registros de resultados y todos aquellos inmiscuidos en los procedimientos y el reporte o informe de validación

## VII. CONCLUSIONES

1. La propuesta de guía presentada en esta investigación es limitada, no obstante puede utilizarse en la validación de métodos de limpieza de equipos utilizados en la fabricación de formas farmacéuticas orales no estériles, ya que esta engloba información técnica y lineamientos que pueden ser tomados en cuenta para la validación de métodos de limpieza.
2. La presente propuesta de Guía técnica para la Validación de métodos de limpieza en equipos utilizados en la fabricación de líquidos orales no estériles está basada en las siguientes guías internacionales: Guía de verificación de limpieza de equipos de la FDA, Guía de Validación de métodos analíticos: limpieza de equipos. CIPAM. Procesos de Validación de limpieza y su Validación en áreas de Fabricación. CIPAM. Guía de validación de métodos de limpieza de CIPAM, las cuales han sido estandarizadas.
3. Para definir el método de toma de muestras adecuado los laboratorios deben basarse en las condiciones y el diseño del equipo, el tipo de superficie, la extensión del área a muestrear y por supuesto, deben seguirse los lineamientos técnicos expuestos, ya que de esto dependerá el garantizar la estabilidad de las muestras para su posterior análisis.
4. Los parámetros de desempeño a evaluar en una Validación de limpieza son específicos para este tipo de Validación algunos se basan en el método de toma de muestra y estos están directamente ligados con el proceso de limpieza y son independientes del Método analítico que se utilizará para cuantificar los residuos. Además evidencian la efectividad del método de limpieza

5. Los métodos analíticos para cuantificar los residuos deben estar previamente validados. Pese a que hay métodos analíticos oficiales, muchos laboratorios, no cuentan con el equipo de análisis adecuado para la cuantificación de los residuos, algunos no son suficientemente sensibles, otros no se adecuan al residuo, en fin, existen limitantes al desarrollar o adecuar métodos, estos deben estar validados sean oficiales o no.

## VIII. RECOMENDACIONES

1. Que los Entes Reguladores del país gestionen un Comité para la elaboración de una Guía Técnica para la Validación de métodos de limpieza de equipos en la fabricación de líquidos orales no estériles.
2. Que los Entes Reguladores concienticen a la Industria Farmacéutica para acatar estos requisitos y que vigilen el cumplimiento de los lineamientos dados en la Guía que se obtenga.
3. A la Industria Farmacéutica, dar seguimiento a la Validación de limpieza de equipos y áreas, ya que es importante no solo por cumplir requerimientos de organismos nacionales e internacionales si no por razones morales y éticas, además los métodos de limpieza validados son fiables y pueden garantizar que no existirá contaminación cruzada entre productos.
4. Validar todos los métodos analíticos, para aplicar la validación de limpieza.
5. Redactar una Guía técnica general, donde se incluyan otras áreas y formas farmacéuticas que no se tomaron en cuenta en la presente propuesta de Guía.
6. Que la presente propuesta de Guía sea del conocimiento de estudiantes de las cátedras de Tecnología Farmacéutica y Control de Calidad en la carrera de Licenciatura en Química y Farmacia, con el fin de concientizar a los futuros profesionales sobre la importancia de

controlar la limpieza de todos los equipos de fabricación de medicamentos.

7. Se sugiere interpretar estadísticamente los datos y analizar los resultados, usando la Regresión Lineal, esta permitirá discriminar algunas variables independientes que no afecten en gran magnitud el proceso.

## BIBLIOGRAFIA

- 1 González González, CD, Validación retrospectiva y control estadístico de procesos en la Industria Farmacéutica, Universidad de Chile, Tesis de grado, Licenciatura en Química y farmacia. Santiago de Chile, Chile, 2005. Disponible en: [www.scribd.com](http://www.scribd.com)
- 2 Hidalgo Rodríguez, AI. Validación del método de limpieza de la envasadora de polvos DOS MICRO después de la producción de Bencilpenicilina Sódica en Betapharma S.A. Tesis de grado, Bioquímico farmacéutico. Riobamba, Ecuador, 2010. Disponible en: [www.scribd.com](http://www.scribd.com)
- 3 Jiménez Arias, AC. Validación del método de limpieza de la encapsuladora automática Bosh luego de la producción de cápsulas de Dicloxacilina en Betapharma S.A. Tesis de grado para optar al título de Bioquímico farmacéutico. Riobamba, Ecuador, 2010. Disponible en: [www.scribd.com](http://www.scribd.com)
- 4 López Marzo AM, Pierre Marzo RA. Establecimiento del límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción de la Industria farmacéutica. Revista Cubana Farmaceutica 2005; 39(3). Disponible en: [http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol39\\_3\\_05/far10305.htm](http://www.bvs.sld.cu/revistas/far/vol39_3_05/far10305.htm)
- 5 Merino Chávez, MA. Validación del método de limpieza de la envasadora de polvos MateerBurt para fabricación de amoxicilina en Betapharma S.A. Tesis de grado, Bioquímico farmaceutico. Riobamba Ecuador, 2010. Disponible en: [www.scribd.com](http://www.scribd.com)
- 6 Perez García, MD, Protocolo para la Evaluación de la calidad del proceso de limpieza de tanques utilizados para la elaboración de jarabes farmacéuticos. Proyecto de trabajo especial de grado para optar al título Especialistas en Sistemas de la calidad. Caracas, Venezuela , Junio 2012.
- 7 Guide for to inspections validation of cleaning process. Disponible en :

www.fda.gov {Consultada el 06/03/2012}.

- 8 Validación de la limpieza de equipos en la Industria farmacéutica. Disponible en: <http://blogsdm.files.wordpress.com/2009/11/4921455-validacion-limpieza-con-toc.pdf>
- 9 Sanz Sánchez E. Validación de limpieza en la Industria Farmacéutica I y II Validación GMP/ GLP. 69-72. Disponible en: [www.farmaindustrial.com](http://www.farmaindustrial.com)
- 10 Justificación de límites para validación de limpieza en la fabricación de ingredientes activos farmacéuticos. GMP news, Mayo 2007. Disponible en : [www.scribd.com](http://www.scribd.com)
- 11 Guía de Validación de métodos analíticos: limpieza de equipos. CIPAM. Comisión Interinstitucional de Buenas Prácticas de Fabricación. Primera edición. México, 2004.
- 12 Procesos de Validación de limpieza y su Validación en áreas de Fabricación. CIPAM. México Distrito Federal, 1999.
- 13 Agencia Nacional de vigilancia sanitaria. Gerencia general de Inspección de Medicamentos y productos. Validación de limpieza. Brasilia, Brasil, 2006.
- 14 Productos Farmacéuticos. Medicamentos de Uso humano. Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria Farmacéutica. RTCA. 11.03.42:07.
- 15 Guía Técnica de Validación de Métodos. CONACYT. El Salvador, 2010.

**ANEXO**

**ANEXO N° 1**

**CALCULO DEL LIMITE DE RESIDUO ACEPTABLE**

## **Calculo de límite de aceptación de residuo<sup>(11)</sup>**

### **Límite de aceptación del residuo basado en propiedades farmacológicas.**

#### **EJEMPLO 1: BROMHIDRATO DE DEXTROMETROFANO.**

El Dextrometorfano es un opioide sintético utilizado para la tos, en cantidades de 100 mg a 1000 mg tiene efectos alucinógenos, además deprime el SNC, aunque se encuentra en medicamentos de venta libre (antigripales, jarabe para la tos).

**Paso 1:** Definir residuo: Bromhidrato de Dextrometorfano

**Paso 2:** Determinar todos aquellos productos que compartan superficies de equipos con el producto A que no contengan el residuo: con base a la información de las ordenes de fabricación (protocolos de fabricación), se identifican los productos (y sus sustancias activas correspondientes) B (b), C (c), D (d), E (e), F (f) que no contienen X y que comparten equipos de fabricación con el producto A; por lo que el residuo de X los puede contaminar de manera potencial, si el proceso de limpieza de los equipos no es confiable.

**Paso 3:** Calcular el límite de residuo por sustancia activa en cada producto con base en la siguiente formula:

$$L = \frac{DT \times F}{DM}$$

Donde:

L = Límite del residuo en la sustancia activa del producto a contaminar.

DT= Dosis terapéutica (peso) del residuo.

F= Factor de seguridad en función de la vía de dosificación del producto a contaminar.

DM= Dosis máxima diaria de la sustancia del producto a contaminar (peso).

La información de estas dosis de estas sustancias (residuo y de la sustancia activa del producto a contaminar) puede ser obtenida de referencias bibliográficas reconocidas o de la información del registro de los productos.

El Factor de seguridad (F) está asociado con la vía de administración del producto a contaminar. En la tabla 3 se presentan el valor de estos factores.

En la tabla 4 se reporta la información necesaria y el cálculo de los límites de residuo (mg residuo / mg de sustancia) es importante indicar que al ser las unidades mg/ mg este límite también puede ser reportado en g/g ó en Kg/ Kg.

**Paso 4:** Con la información de la orden maestra de fabricación de cada producto a contaminar (B, C, D, E, F, G...) determinar la cantidad de principio activo (b, c, d, e, f...) presente en el lote, (SAL): multiplicar el valor de L por SAL para calcular la cantidad del residuo permitido en el lote (LL) de cada producto, en la tabla 5 se reportan la información de SAL, L y LL.

**Paso 5:** con la información de las órdenes maestras de fabricación de los productos a contaminar (B, C, D, E, F) determinar cuáles son los equipos mayores, menores, auxiliares (tanques, propelas, mangueras, bombas, tuberías, recipientes, etc) que comparten sus superficies durante el proceso de fabricación del producto A (residuo) y cuyo proceso de limpieza de equipos va a ser validado: reportar de cada producto (B, C, D, E...) el área compartida con el producto A (AC). Calcular el límite aceptable del residuo (LAR) para cada producto al obtener el cociente LL respecto de AC. En la tabla 6 se reportan la información de LL, AC y LAR del Bromhidrato de Dextrometorfano.

**Tabla 4. Valores del factor de seguridad<sup>(11)</sup>**

Vía de administración del producto	F
Tópica	0.01
Oral	0.001
Inyectable u oftálmico	0.0001
Productos nuevos	0.00001

**Tabla 5. Calculo de residuo en el principio activo del producto a contaminar basado en las propiedades farmacológicas**

<b>Producto A. Residuo Bromhidrato de Dextrometorfano DT= 45 mg</b>					
Producto	Sustancia activa	DM (mg)	Vía de Dosificación	F	L (mg/mg)
B	b	200	oral	0.001	0.000225
C	c	1600	oral	0.001	0.000028125
D	d	320	oral	0.001	0.000140625
E	e	500	oral	0.001	0.00009
F	f	400	oral	0.001	0.0001125

**Tabla 6. Información y cálculo de límite del residuo en el lote del producto basado en propiedades farmacológicas.**

Producto	Principio activo	SAL (g)	L (g/g)	LL (mg)
B	b	40,000	0.000225	9,000
C	c	80,000	0.000028125	2,250
D	d	16,000	0.000140625	2,250
E	e	36,000	0.00009	3,240
F	f	20,000	0.0001125	2,250

**Tabla 7. Información y cálculo de límite aceptable de Bromhidrato de Dextrometorfano en superficie para cada producto basado en propiedades farmacológicas.**

Producto	Sustancia activa	LL (mg)	AC (cm <sup>2</sup> )	LAR (mg/cm <sup>2</sup> )
B	b	9,000	181,200	0.0497
C	c	2,250	181,200	0.0124
D	d	2,250	181,200	0.0124
E	e	3,240	77,700	0.0417
F	f	2,250	12,300	0.1829

Una suposición para dar validez al cálculo del LAR se basa en la teoría de la contaminación, la cual plantea la contaminación homogénea de la superficie de los equipos. Bajo la situación del caso conservador, el menor valor de LAR, debe ser fijado para fines de validación del proceso de limpieza, lo cual corresponde al producto C ó D ( $0.0124 \text{ mg/cm}^2$  ó  $12.4 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$ ) o cualquier valor inferior a éste (por ejemplo  $10 \text{ } \mu\text{g/cm}^2$ ).

**Límites de aceptación de residuo basado en las propiedades toxicológicas.**

#### **EJEMPLO 2: AMINOPIRIDINA**

La 4- Aminopiridina es un medicamento que bloquea los canales de potasio de las neuronas, mejorando la conducción de los impulsos nerviosos. Esta funciona cuando hay axones (prolongaciones largas de las neuronas) sin daño a su envoltura de mielina esté incompleta o ausente, este fármaco se utiliza para la esclerosis múltiple.

Dosis altas (mayores a 60 mg) causa intoxicación con efectos que van desde vómitos, dolor abdominal, debilidad, mareos y en casos severos convulsiones severas.

**Paso 1:** Definir el residuo: Aminopiridina del producto A.

**Paso 2:** Determinar todos aquellos productos que compartan superficies de equipos con el producto A y que no contengan el residuo: con base a la información de las órdenes de fabricación (protocolos de fabricación), se identifican los productos, (y sus sustancias correspondientes) B (b), C (c), D (d), E (e), F (f), que no contienen X y, que comparten equipos de fabricación con el producto A; por lo que el residuo X, los puede contaminar de manera potencial, si el proceso de limpieza de los equipos no es confiable.

**Paso 3:** Calcular el límite de residuo por sustancia tóxica en cada producto con base a la siguiente fórmula:

$$L = \frac{DL_{50} \times P \times 0.001 \times F}{DM}$$

Donde:

L = Límite del residuo en el principio activo a contaminar (mg/mg)

DL<sub>50</sub> = Dosis letal al 50% (mg/Kg) del residuo

P = Peso promedio en Kg de un adulto (70 Kg)

F = Factor de seguridad en función de la vía de administración del producto a contaminar.

DM = Dosis máxima diaria del principio activo del producto a contaminar.

La información del DL<sub>50</sub> del residuo en la unidad biológica seleccionada y la dosis máxima diaria del principio activo del producto a contaminar, pueden ser obtenidas de fuentes bibliográficas reconocidas o de la información del registro sanitario del producto.

El factor de seguridad (F) está asociado a la vía de administración del producto a contaminar. En la tabla 3 se presenta el valor de estos factores, que varía según la bibliografía consultada.

En la tabla 7, se reporta la información necesaria y los cálculos de los límites de residuo (mg residuo/ mg principio activo). Es importante indicar que al ser las unidades mg/mg también puede expresarse en Kg/Kg, g/g etc.

**Paso 4:** Con la información de la orden maestra de fabricación de cada producto a contaminar (B, C, D, E, F...) determinar la cantidad de principio activo (b, c, d, e, f) presente en el lote (SAL): multiplicar el valor de L por SAL, para calcular la cantidad de residuo permitido en el lote (LL) de cada producto. En la tabla 8 se reporta la información de LL y SAL.

**Tabla 8. Cálculo de residuo en la sustancia activa del producto a contaminar basado en propiedades farmacológicas**

Residuo: Aminopiridina DL <sub>50</sub> = 70 mg/ Kg					
Producto	Principio activo	DM (mg)	Vía de administración	F	L
B	b	1,200	Oral	0.001	4.083 x 10 <sup>-6</sup>
C	c	2,000	Oral	0.001	2.450 x 10 <sup>-6</sup>
D	d	2,000	Oral	0.001	2.450 x 10 <sup>-6</sup>
E	e	250	Oral	0.001	1.960 x 10 <sup>-5</sup>
F	f	400	Oral	0.001	1.225 x 10 <sup>-5</sup>

**Tabla 9. Información y cálculo de límite del residuo en el lote del producto basado en propiedades toxicológicas.**

Producto	Principio activo	SAL (g)	L (g/g)	LL (mg)
B	b	183,000	4.083 x 10 <sup>-6</sup>	747.25
C	c	600,000	2.450 x 10 <sup>-6</sup>	1470.00
D	d	454,600	2.450 x 10 <sup>-6</sup>	1113.77
E	e	454,600	1.960 x 10 <sup>-5</sup>	8910.16
F	f	585,000	1.225 x 10 <sup>-5</sup>	7166.25

**Paso 5:** Con la información de las órdenes maestras de fabricación de los productos B, C, D, E y F (productos a contaminar); determinar los equipos mayores, menores, auxiliares (tanques, propelas, mangueras, bombas, tuberías, recipientes, etc) que comparten superficie durante el proceso de fabricación del producto A (residuo) y cuyo proceso de limpieza de equipos va a ser validado: reportar para cada producto (B, C, D, E y F) la magnitud del área compartida con el producto A (AC). Calcular el límite aceptable de residuo (LAR) para cada producto al obtener el cociente de LL respecto de AC. En la tabla 9 se reporta la información de AC, LL, LAR de Aminopiridina.

**Tabla 10. Información y cálculo de residuo aceptable de Aminopiridina en superficies para cada producto basado en propiedades farmacológicas.**

Producto	Principio activo	LL (mg)	AC (cm <sup>2</sup> )	LAR (mg/cm <sup>2</sup> )
B	b	747.25	44,190	0.0169
C	c	1470.00	42,440	0.0346
D	d	1113.77	42,440	0.0262
E	e	8910.16	42,440	0.2099
F	f	7166.25	39,190	0.1828

Una suposición para dar validez al cálculo del LAR se basa en la teoría de la contaminación, la cual plantea la contaminación homogénea de la superficie de los equipos. Bajo la situación del caso conservador el menor valor del LAR, debe ser fijado para fines de validación del proceso de limpieza, lo cual corresponde al producto B (0.0169 mg/ cm<sup>2</sup> ó 16.9 µg/cm<sup>2</sup>) o cualquier valor inferior a este (como por ejemplo 15 µg

### **Límites de aceptación de residuo basado en el nivel de 10 ppm**

#### **EJEMPLO 3 : LAURILSULFATO DE SODIO.**

**Paso 1:** Definir residuo: Laurilsulfato de sodio del producto A (agente de limpieza).

**Paso 2:** Determinar todos los productos cuyos equipos son sometidos al proceso de limpieza con el producto A: con base a la información del proceso de limpieza y a las órdenes de fabricación, se identifican los productos (y sus sustancias activas correspondientes) B(b), C(c), D(d), E(e), F(f), G(g1, g2) H (h1, h2) e I (i) cuyo proceso de fabricación utiliza los equipos que son sometidos al proceso de limpieza, el cual potencialmente genera el residuo “a” (Laurilsulfato de sodio) proveniente del producto A (agente de limpieza) por lo

que dicho residuo puede contaminar de manera potencial a los productos, si el proceso de limpieza no es confiable.

**Paso 3:** Determinar el límite de residuo con base al nivel de 10 ppm

$$L = 10 \mu\text{g/g}$$

Donde:

L = Límite del residuo en la sustancia activa del producto a contaminar (peso/peso).

Este valor de L se aplica a cualquier principio activo de los productos mencionados. El límite expresado en g/g da lugar a 0.00001 g/g

**Paso 4:** Con la información de la orden maestra de fabricación de cualquier producto a contaminar (B, C, D, E, F, G, H e I), determinar la cantidad de principio activo (b, c1, c2, d, e, f, g1, g2, h1, h2 e i) presente en el lote (SAL): multiplicar el valor de L por SAL para calcular la cantidad permitida en el lote (LL) de cada activo del producto. En la tabla 12 se presentan los valores de SAL, L y LL.

**Paso 5:** Con la información de la orden maestra de fabricación de los productos B, C, D, E, F, G, H e I (productos a contaminar); determinar cuáles son los equipos mayores, menores, auxiliares (tanques, propelas, tuberías, mangueras, bombas, recipientes, etc) sometidos al proceso de limpieza: reportar para cada producto (B, C, D, E, F, G, H e I) la magnitud del área a ser sometida al proceso de limpieza con el producto A (AC). Calcular el límite aceptable de residuo (LAR) para cada principio activo del producto, al obtener el cociente LL respecto de AC. En la tabla 13 se reporta la información de LL, AC y LAR de Laurilsulfato de sodio.

**Tabla 11. Información y cálculo de límite del residuo en el lote del producto basado en el nivel de 10 ppm**

Producto	Principio activo	SAL (g)	L (g/g)	LL (mg)
B	b	40,000	0.00001	400.00
C	c1	80,000	0.00001	800.00
C	c2	16,000	0.00001	160.00
D	d	6,000	0.00001	60.00
E	e	36,000	0.00001	360.00
F	f	20,000	0.00001	200.00
G	g1	4,500	0.00001	45.00
G	g2	4,500	0.00001	45.00
H	h1	2,260	0.00001	22.60
H	h2	2,260	0.00001	22.60
I	i	6,000	0.00001	60.00

**Tabla 12. Información y cálculo de límite aceptable de Lauril Sulfato de sodio en superficie para cada principio activo-producto basado en el nivel de 10 ppm**

Producto	Principio activo	LL (mg)	AC (cm <sup>2</sup> )	LAR (mg/cm <sup>2</sup> )
B	b	400.00	115,100	0.00348
C	c1	800.00	115,100	0.00695
C	c2	160.00	115,100	0.00139
D	d	60.00	76,400	0.00079
E	e	360.00	76,400	0.00471
F	f	200.00	16,800	0.01190
G	g1	45.00	115,100	0.00039
G	g2	22.60	115,100	0.00019
H	h1	45.00	76,400	0.00058
H	h2	22.60	76,400	0.00029
I	i	60.00	115,100	0.00052

Una suposición para dar validez al cálculo del LAR se basa en la teoría de la contaminación, la cual plantea la contaminación homogénea de la superficie de los equipos. Bajo la situación del caso conservador del menor valor de LAR, debe ser fijado para fines de la validación del proceso de limpieza la cual corresponde al principio activo h1 ó h2 del producto H ( $0.0003 \text{ mg/cm}^2$  ó  $0.3 \mu\text{g/cm}^2$ ).