

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



Evaluación retrospectiva del método de limpieza para corticosteroides (Betametasona y Prednisolona) en el área y equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales

Trabajo de Graduación presentado por Keila Sofía Melgar Ruano para optar al grado académico de Licenciada en Química Farmacéutica

Guatemala,

2020

UNIVERSIDAD DEL VALLE DE GUATEMALA

Facultad de Ciencias y Humanidades



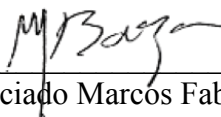
Evaluación retrospectiva del método de limpieza para corticosteroides (Betametasona y Prednisolona) en el
área y equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales

Trabajo de Graduación presentado por Keila Sofía Melgar Ruano para optar al grado académico de
Licenciada en Química Farmacéutica

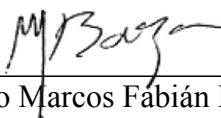
Guatemala,

2020


Vo. Bo. :

(f) 
Licenciado Marcos Fabián Baeza López
Asesor

Tribunal Examinador:

(f) 
Licenciado Marcos Fabián Baeza López
Asesor

(f) 
Licenciada Ingrid Patricia Martínez Cosillo

(f) 
Doctor Élfego Rolando López García
Director Departamento de Química Farmacéutica

Fecha de aprobación: Guatemala, 03 de diciembre de 2020

AGRADECIMIENTOS A:

Dios	Por darme la sabiduría e inteligencia para terminar mi carrera universitaria, por haberme guiado durante todo el proceso y por darme fortaleza en momentos difíciles.
Mis padres	Por su amor y apoyo incondicional, por brindarme la oportunidad de una excelente educación, por los valores que me inculcaron y sobre todo, por ser un excelente ejemplo a seguir.
Mi hermana	Por su compañía, por su amor y apoyo incondicional, por su lealtad, por confiar en mí y por enseñarme lo que es ser una buena amiga en tiempos difíciles.
Mis abuelos	Por sus palabras de ánimo, por creer en mí, por sus consejos y por el amor que me demuestran día a día; también les agradezco por haberme ayudado a tomar las decisiones más difíciles que me definirían como persona.
Mis amigos	Por hacer de estos cinco años de estudio un lugar agradable; por convertirse en mi segunda familia, con la que puedo contar en las buenas y en las malas, por brindarme su amistad y su apoyo; pero principalmente, por acompañarme en esta experiencia de convertirnos en profesionales.
Universidad del Valle de Guatemala	Por haberme permitido desarrollar mi carrera en el área farmacéutica, por haberme brindado una educación íntegra, por permitirme crecer profesionalmente y por el consejo que cada catedrático me brindó y me convirtió en la persona que soy el día de hoy.
CHEMINTER, S.A.	Por darme la oportunidad de desarrollarme en el ámbito laboral y por haber confiado en mí para llevar a cabo el presente trabajo de investigación que culmina mi carrera estudiantil.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	viii
Figuras	viii
Tablas	viii
Gráficas	ix
RESUMEN	x
1. INTRODUCCIÓN	1
2. MARCO CONCEPTUAL	3
2.1 Antecedentes	3
2.2 Justificación	7
2.3 Planteamiento del problema	8
2.4 Alcances y límites	8
2.4.1 Alcance	8
2.4.2 Límites	9
3. MARCO TEÓRICO	10
3.1 Limpieza en la industria farmacéutica	10
3.1.1 Procedimiento estándar de limpieza	11
3.1.2 Detergentes y solventes de limpieza	12
3.1.3 Limpieza de áreas	14
3.1.4 Limpieza de equipos	15
3.1.5 Caducidad de la limpieza	17
3.2 Validación	18
3.2.1 Validación de limpieza	18
3.2.1.1 Límites de aceptación de residuos	20
3.2.1.2 Inspección visual de limpieza	20
3.2.1.3 Dosis terapéutica	20
3.2.1.4 Información toxicológica	20
3.2.1.5 Criterio de las 10 partes por millón	21
3.2.2 Proceso de manufactura	21
3.2.2.1 Listado de equipos que intervienen en el proceso de betametasona y prednisolona	22
3.2.3 Puntos de muestreo	22
3.2.4 Métodos de muestreo	23
3.2.4.1 Método de hisopado	23
3.2.4.2 Método de enjuague	24
3.2.5 Métodos analíticos para análisis de limpieza	24
3.2.5.1 Composición de la muestra	26
3.2.5.2 Placebo para validación del método analítico de análisis de limpieza	27
3.2.5.3 Validación de métodos analíticos para análisis de limpieza	27
3.2.5.4 Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)	28
3.3 Betametasona	30
3.3.1 Propiedades fisicoquímicas	30
3.3.2 Uso clínico	31
3.3.3 Dosificación	31
3.3.4 Efectos secundarios	31
3.3.5 Contraindicaciones	31
3.4 Prednisolona	31
3.4.1 Propiedades fisicoquímicas	32
3.4.2 Uso clínico	32
3.4.3 Dosificación	32
3.4.4 Efectos secundarios	32

3.4.5	Contraindicaciones.....	33
4.	MARCO METODOLÓGICO	34
4.1	Objetivos.....	34
4.1.1	Objetivos generales.....	34
4.1.2	Objetivos específicos	34
4.2	Hipótesis	34
4.3	Variables.....	34
4.3.1	Variables dependientes:	34
4.3.2	Variables independientes:	34
4.4	Población	35
4.4.1	Criterios de inclusión:.....	35
4.4.2	Criterios de exclusión:	35
4.5	Muestra	35
4.6	Procedimiento.....	36
4.7	Diseño de investigación.....	36
4.8	Análisis estadístico	36
4.8.1	Análisis descriptivo.....	36
4.8.2	Análisis cuantitativo.....	36
5.	MARCO OPERATIVO.....	37
5.1	Recabación y tratamiento de datos	37
5.2	Recursos.....	37
5.2.1	Recursos Humanos.....	37
5.2.2	Recursos Materiales.....	37
6.	RESULTADOS.....	38
7.	DISCUSIÓN DE RESULTADOS	53
8.	CONCLUSIONES	59
9.	RECOMENDACIONES	60
10.	BIBLIOGRAFÍA.....	61
11.	ANEXOS.....	65
11.1	Glosario de términos.....	66

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Figuras

Figura No.1 Diagrama representativo para la elección de un detergente	13
Figura No.2 Proceso de manufactura de soluciones esteroideas	22
Figura No.3 Técnica de muestreo por hisopado	24
Figura No.4 Módulos ineludibles de un cromatógrafo HPLC	29
Figura No.5 Estructura química de la betametasona	30
Figura No.6 Estructura química de la prednisolona	32

Tablas

Tabla No.1 Equipos que intervienen en el proceso de manufactura de betametasona y prednisolona	22
Tabla No.2 Características y puntos de muestreo de equipos y áreas.....	23
Tabla No.3 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2	38
Tabla No.4 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2	38
Tabla No.5 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3.....	39
Tabla No.6 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3	39
Tabla No.7 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4.....	40
Tabla No.8 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4	40
Tabla No.9 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5 y No.6	41
Tabla No.10 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5 y No.6	41
Tabla No.11 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7 y No.8	42
Tabla No.12 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7 y No.8	42
Tabla No.13 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2	43
Tabla No.14 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2	43
Tabla No.15 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3	44

Tabla No.16 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3	44
Tabla No.17 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4	45
Tabla No.18 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4	45
Tabla No.19 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5	46
Tabla No.20 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5	46
Tabla No.21 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.6	47
Tabla No.22 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.6	47
Tabla No.23 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7	48
Tabla No.24 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7	48
Tabla No.25 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.8	49
Tabla No.26 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.8	49
Tabla No.27 Resumen del análisis de datos de la concentración de Betametasona en ocho lotes de fabricación	50
Tabla No.28 Resumen del análisis de datos de la concentración de Prednisolona en ocho lotes de fabricación	50
Tabla No.29 Análisis de datos de la concentración de esteroides (Betametasona y Prednisolona) en las áreas de metrología y fabricación de líquidos.....	51
Tabla No.30 Análisis de datos de la concentración de esteroides (Betametasona y Prednisolona) en los equipos utilizados para la fabricación de líquidos.....	51

Gráficas

Gráfica No.1 Concentración media de esteroides en partes por millón de las áreas muestreadas	52
Gráfica No.2 Concentración media de esteroides en partes por millón de los equipos muestreados.....	52

RESUMEN

El propósito fundamental de esta investigación es verificar el método de limpieza empleado en una industria farmacéutica de Guatemala, en el área y en los equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona como componentes activos de interés. Esto con la finalidad de generar información confiable que permita llevar a cabo la futura validación del método de limpieza de las áreas y equipos en el laboratorio farmacéutico.

Para esto se decidió hacer una evaluación retrospectiva basándose en las normas y directrices pertenecientes a una validación retrospectiva que exige la Organización Mundial de la Salud (OMS), el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA) y las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM).

Se utilizó el límite de aceptación de residuos que requiere la Food and Drug Administration (FDA) de 10 ppm como concentración máxima de esteroides que puede existir en las áreas y equipos utilizados para la fabricación de soluciones orales, después de la limpieza.

Los datos obtenidos para cumplir con los objetivos planteados fueron las concentraciones esteroideas reportadas en los expedientes del historial de fabricación y análisis de trazas de los principios activos, efectuadas mediante el método analítico cuantitativo de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC). Para el análisis de los datos recolectados se hizo una comparación de este resultado con el límite de aceptación de residuos en donde se obtuvo que todas áreas, equipos y lotes estaban por debajo del criterio de 10 ppm, por lo que los resultados fueron satisfactorios. En el análisis estadístico descriptivo se clasificaron las concentraciones en “cumple” o “no cumple”; y en el análisis estadístico cuantitativo se obtuvo un valor p para determinar si la limpieza es eficaz, con un intervalo de confianza de 95%.

Se concluye que las concentraciones de trazas de Betametasona y Prednisolona en áreas y equipos se encuentran por debajo de los límites inferiores de aceptación de residuos, por lo que el método de limpieza empleado es el adecuado y se puede continuar con la fabricación de un nuevo producto sin riesgo de contaminación cruzada.

1. INTRODUCCIÓN

El proceso de limpieza se define como la eliminación de cualquier suciedad o impureza presente sobre una superficie u objeto, mientras que la sanitización es definida como la eliminación de microorganismos o la inhibición del crecimiento microbiano. Ambas acciones son recíprocas e imprescindibles para el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura ¹. En la industria farmacéutica, la limpieza y sanitización de áreas y equipos se efectúa con el fin de eliminar la contaminación de impurezas químicas, biológicas o cuerpos extraños ².

Según las Buenas Prácticas de Manufactura, la contaminación cruzada se refiere a la contaminación de materia prima, producto intermedio o producto terminado con cualquier otro material de partida o producto durante la fabricación. Para prevenir este tipo de contaminación es necesario tener instalaciones aisladas e independientes para la fabricación de ciertos productos farmacéuticos. Además, se debe contar con un plan de limpieza que asegure la eliminación de trazas de producto terminado para iniciar la fabricación de uno nuevo ³.

Este estudio se llevará a cabo con productos esteroideos, si algún otro producto se ve afectado por trazas de estos compuestos puede causar efectos no deseados en la salud de los consumidores. Esto ocurre debido a que los esteroides tienen la capacidad de ejercer una acción tóxica a dosis bajas. Para evitar la contaminación cruzada, estos productos deben ser producidos por campaña. En este caso se trabajará con soluciones orales de Betametasona y Prednisolona, ambos pertenecen al grupo de los corticosteroides y, en bajas concentraciones y a largo plazo, pueden causar efectos adversos como: glaucoma, retención de líquidos, hipertensión, alteraciones del sistema nervioso central, alteraciones metabólicas de los lípidos, hiperglucemia, osteoporosis, entre otros ⁴. Por este motivo es importante asegurar la limpieza de áreas y equipos que intervienen en la fabricación de estos productos antes de comenzar a fabricar otro producto ³. Para evaluar si la limpieza es efectiva se deben tomar muestras de puntos críticos en áreas y equipos, y analizar estas muestras por medio de un método cuantitativo y otro cualitativo por el método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) y por el método de análisis de carbono orgánico total, respectivamente (TOC) ⁵.

En la industria farmacéutica donde se lleva a cabo la investigación se utilizan agentes de limpieza específicos para la eliminación de contaminantes de cualquier tipo. Se utilizan tres soluciones de limpieza que son: hipoclorito de sodio 120 ppm, cloruro de benzalconio al 0.3% y amonio cuaternario de quinta generación 200 ppm. Además se utiliza detergente neutro para la limpieza de algunos equipos y alcohol isopropílico al 70% (v/v) para la sanitización de los mismos. El procedimiento de limpieza establecido por la empresa dicta que se deben rotar periódicamente la solución de limpieza cada semana, y el detergente neutro y alcohol isopropílico se utilizará siempre que sea necesario, según los procedimientos de limpieza establecidos por la industria. La Betametasona es soluble en alcohol, mientras que la Prednisolona es soluble en agua ^{6,7}. Todos los equipos se limpian con agua y detergente neutro, después se aplica un lavado con la solución de limpieza y finalmente, se sanitizan con alcohol isopropílico al 70%; las áreas se limpian con detergente neutro y agua,

seguido de una limpieza con la solución sanitizante; por lo que los principios activos son eliminados, efectivamente, de las superficies de las áreas y equipos ⁸.

Las industrias farmacéuticas que trabajan con materias primas como los corticosteroides, deben contar con métodos de limpieza, preferiblemente validados, para asegurar la calidad de los procesos de manufactura y empaque del producto. La validación de la limpieza es importante ya que a través de ella es posible confirmar la efectividad de cualquier procedimiento de limpieza de todas las áreas y equipos que estén en contacto con el producto activo. Para comprobar que un método de limpieza está validado, este debe desarrollarse un número apropiado de veces y los resultados deben cumplir con los criterios de aceptación descritos por entidades reconocidas tales como la OMS, USP, FDA, entre otras ⁹. Estos criterios deben ser factibles de alcanzar y el resultado debe ser lo más exacto posible. Para validar un procedimiento de limpieza se debe contar con la validación del método analítico cuantitativo y cualitativo para que los resultados sean confiables. El método cuantitativo debe ser específico y sensible para comprobar el nivel de trazas en la muestra ¹⁰.

La limpieza de esteroides en las áreas y equipos debe ser comprobada por un método cualitativo y un método cuantitativo. El método cualitativo empleado en la empresa en donde se llevará a cabo el estudio es el de TOC o análisis de carbono orgánico total, y es útil para comprobar la eficiencia de la limpieza de los equipos y áreas, esta es una técnica capaz de detectar el carbono orgánico residual de detergentes, desinfectantes y principios activos ¹⁰. El método analítico cuantitativo utilizado es el de cromatografía líquida de alta eficiencia debido a que es útil para la separación de moléculas como los esteroides, contaminantes y trazas ¹¹. Este método tiene la capacidad de separar, aislar, identificar y caracterizar los componentes de una mezcla compleja y por este motivo es ampliamente utilizado en la industria farmacéutica ¹².

Los hallazgos de este estudio serán útiles para la futura validación de limpieza de los equipos y áreas que estén involucradas en la fabricación de productos esteroideos de Betametasona y Prednisolona en una industria farmacéutica de Guatemala. Sin embargo, se considera únicamente una fase de la evaluación de la limpieza, específicamente, el método cuantitativo de cromatografía líquida de alta eficiencia. Se tomará en cuenta que los resultados provistos por el HPLC con detector UV-VIS estén dentro de los rangos establecidos por el departamento de validaciones. Para que los datos presentados en este estudio sean significativos, se evaluarán ocho lotes de la fabricación de la solución que contiene Betametasona y ocho lotes de la fabricación de la solución oral de Prednisolona.

2. MARCO CONCEPTUAL

2.1 Antecedentes

En el 2012, se presentó el informe de prácticas pre-profesionales: “*Validación del procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de Betametasona 0.05% crema*” por Jorge Luis Dávila Aguilar; en Trujillo, Perú. Este estudio se realiza con el fin de validar el procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de Betametasona crema al 0.05% para asegurar que las trazas del agente no afecten negativamente al siguiente producto a fabricar y que estas se encuentren por debajo del límite de 10 ppm. De igual forma, se realizó una determinación de trazas de detergente y un muestreo microbiológico a todos los equipos ¹³.

Los resultados de determinación de trazas de detergente y de conteo de unidades formadoras de colonias fueron aprobados ya que cumplían con las especificaciones fisicoquímicas y con las especificaciones microbiológicas, respectivamente. Asimismo, se determinó que las trazas del agente activo se encontraban por debajo del límite de aceptación, el cual fue establecido en 10 ppm, por lo que el procedimiento de limpieza de los equipos de manufactura de Betametasona 0.05% crema, cumplen con los criterios de aceptación, y por lo tanto, el método se validó ¹³.

En el 2015, se presentó el trabajo para optar a un título de Especialista en Aseguramiento de la Calidad: “*Validación del proceso de limpieza de un área de producción de esteroides inyectables*” por el farmacéutico Simón, en Venezuela. Dicho trabajo se basa en la validación de los procedimientos de limpieza de un área de fabricación de esteroides y productos no hormonales. Se utilizó el área de fabricación y un tanque de preparación en donde se tiene mayor exposición al producto y por ende, mayor riesgo de contaminación cruzada ¹⁴.

El fosfato sódico de Dexametasona fue el principio activo de elección. Se realizó la validación del método analítico HPLC con detector UV-VIS para la cuantificación de trazas del agente activo y la validación del procedimiento de limpieza. El método analítico fue validado con la cuantificación de trazas de tres lotes de fosfato sódico de Dexametasona, estando los resultados por debajo del límite de aceptación (0.5 µg/mL), cumpliendo con los criterios de selectividad, linealidad, precisión, exactitud, límite de detección y cuantificación. Por medio de estos resultados fue posible verificar que la limpieza para áreas y equipos es efectiva para la eliminación de residuos de fosfato sódico de Dexametasona ¹⁴.

En la Universidad de San Carlos de Guatemala, en noviembre del 2015 se presentó el trabajo de graduación: “Validación de un procedimiento de limpieza en el área de producción de semisólidos y del equipo de emulsificación que trabaja con Betametasona en una industria farmacéutica” por Lourdes Andrea González López. En dicho trabajo se presenta la validación de dos procedimientos de limpieza, el del área de producción de semisólidos y el del equipo de emulsificación de un laboratorio guatemalteco. Se utilizó el método de cromatografía líquida de alta eficiencia para la cuantificación de trazas de principio activo y la técnica de conductividad para la evaluación de la concentración residual del agente tensioactivo ¹⁵.

Para la validación del método de limpieza fue necesario validar ambos métodos analíticos. El método de HPLC fue validado con una linealidad de 0.9999, un coeficiente de variación de 0.296% y un porcentaje de recuperación de 100.26% para la exactitud. El método de conductividad también fue validado con una linealidad de 0.9993, un coeficiente de variación de 2.4% para la precisión y un porcentaje de recuperación de 100.3% para la exactitud. Los resultados tanto para la cuantificación de trazas de agente activo como para cuantificación de trazas de agente tensioactivo fueron satisfactorios, siendo menor a 10 ppm, por lo que los procedimientos de limpieza para el área de producción de semisólidos y para el equipo de emulsificación fueron validados ¹⁵.

Proceso de muestreo y análisis de trazas de esteroides utilizado en la industria farmacéutica: El método utilizado en el muestreo y análisis de trazas de productos esteroideos, así como el proceso de liberación de áreas y equipos, se describen a continuación. Posterior a la limpieza de áreas y equipos, el supervisor de procesos efectúa una inspección visual de la limpieza realizada por el operario, verificando ausencia de residuos; al haber dado el visto bueno, el supervisor solicita al laboratorio fisicoquímico los recipientes para muestreo con el solvente acorde al producto a analizar. La toma de muestras se realiza de dos formas:

- Por el método de hisopado: en equipos y superficies planas. Se utilizan hisopos con cabezal de poliéster y mango de plástico. Se humedece el hisopo en 10mL del diluyente indicado según el procedimiento analítico del producto a analizar (se especifica en el procedimiento de análisis de muestra). Se procede a frotar la superficie deslizando el hisopo de derecha a izquierda, de arriba hacia abajo, y de esquina a esquina formando líneas inclinadas (Figura 3), hasta completar de cinco a diez pasadas, se frota una superficie de 5x5cm. Para muestrear tuberías se debe introducir el hisopo hasta una distancia de 5cm y girarlo en sentido de las agujas del reloj, hacia afuera; luego se frota el hisopo iniciando desde el interior del tubo, en contra de las agujas del reloj, hasta introducir el hisopo 5cm dentro de la tubería. Al finalizar, el hisopo se introduce en el tubo de muestreo y se deberá efectuar cinco movimientos rotatorios suaves,

presionando contra la pared interna del tubo, cerrar bien la tapa e identificar correctamente el tubo, enviar al laboratorio.

- Por el método de enjuague: para puntos de difícil acceso, haciendo pasar una cantidad conocida de agua. Se hacen pasar 5 litros de agua purificada por toda la superficie, o en el caso de los equipos, se deja correr los 5 litros de agua purificada utilizando las mangueras. Se recolectan 100mL de agua en un beaker limpio, destinado únicamente para este uso, se identifica correctamente y se envía al laboratorio.

El supervisor de procesos o el operario colocan la etiqueta de cuarentena (Anexo 2) en los equipos y áreas muestreadas y se entrega la muestra debidamente identificada, con: nombre del principio activo, número de lote, punto de muestreo y fecha de muestreo. El laboratorio fisicoquímico recibe las muestras y las analiza según el procedimiento que corresponde al analito:

- **Betametasona:**

Fase móvil: Preparar 1 Litro de solución de agua HPLC y acetonitrilo (60:40), agitar, filtrar a través de filtro de membrana de nylon de 45 µm y desgasificar por 15 min.

Diluyente: Preparar 1 Litro de solución de alcohol deshidratado y agua HPLC (60:40) y agitar.

Estándar: Preparar una solución de Betametasona 0.01 mg/mL, esto equivale a 10 ppm. Pesar 50 mg del estándar y transferir cuantitativamente en un balón volumétrico de 50mL, disolver con 30 mL de diluyente, colocar en baño ultrasonido por 10 minutos, aforar con diluyente y agitar. Transferir una alícuota de 1 mL a un balón volumétrico de 100 mL, disolver y llevar a volumen con diluyente. Filtrar a través de filtros de cartucho de 0.45 µm.

Preparación de muestras: Someter a ultrasonido los tubos de ensayo en los que se recolectó la muestra durante 10 min para favorecer la extracción de trazas contenidas en el hisopo. Filtrar las muestras utilizando cartucho de 0.45 µm.

Condiciones cromatográficas:

- Columna: RP-18 L1 (4.0 mm x 250 mm) (5 µm)
- Longitud de onda: 240 nm
- Flujo de fase móvil: 1.0 mL por minuto
- Temperatura: ambiente
- Volumen de inyección: 50 µL

Procedimiento: Acondicionar la columna, dejando pasar fase móvil por 30 min o hasta que la línea base sea estable. En el cromatógrafo, inyectar 5 veces el estándar, la desviación entre inyecciones no debe ser mayor al 2%. Proceder a inyectar la muestra en duplicado para obtener los cromatogramas, calcular la concentración en unidades de ppm utilizando el promedio de las respuestas de cada pico.

- Prednisolona:

Diluyente: Pesar 2.0 g de sal ácida de 1-pentanosulfonato de sodio y disolver en 1 L de agua. Tomar 980 mL de la solución anterior y adicionar 20 mL de tetrahidrofurano, agitar y ajustar a pH de 2.0 utilizando ácido fosfórico.

Fase móvil: Preparar 1 Litro de solución de metanol HPLC y diluyente (35:65) , agitar, filtrar a través de filtro de membrana de nylon de 45 µm y desgasificar por 15 min.

Estándar: Preparar una solución de Fostado Sódico de Prednisolona 0.01 mg/mL, esto equivale a 10 ppm. Pesar 26.88 mg del estándar, esto equivale a 20 mg de Prednisolona, y transferir cuantitativamente en un balón volumétrico de 100mL, disolver y aforar con diluyente, agitar. Transferir una alícuota de 5 mL a un balón volumétrico de 100 mL, disolver y llevar a volumen con diluyente. Filtrar a través de filtros de cartucho de 0.45 µm.

Preparación de muestras: Someter a ultrasonido los tubos de ensayo en los que se recolectó la muestra durante 10 min para favorecer la extracción de trazas contenidas en el hisopo. Filtrar las muestras utilizando cartucho de 0.45 µm.

Condiciones cromatográficas:

- Columna: RP-18 L1 (4.0 mm x 250 mm) (5 µm)
- Longitud de onda: 246 nm
- Flujo de fase móvil: 1.5 mL por minuto
- Temperatura: ambiente
- Volumen de inyección: 75 µL

Procedimiento: Acondicionar la columna, dejando pasar fase móvil por 30 min o hasta que la línea base sea estable. En el cromatógrafo, inyectar 3 veces el estándar, la desviación entre inyecciones no debe ser mayor al 2%. Proceder a inyectar la muestra en duplicado para obtener los cromatogramas, calcular la concentración en unidades de ppm utilizando el promedio de las respuestas de cada pico.

Después de haber realizado los análisis para la determinación de residuos presentes o ausentes en los puntos de muestreo, se emiten las etiquetas de liberación para las áreas y equipos cuyos resultados son satisfactorios. Si los resultados son mayores al límite de aceptación se informa al supervisor de producción, quien le comunica al operario que debe repetir la limpieza del área o equipo; se realiza nuevamente la toma de muestra y el análisis de trazas. La etiqueta de cuarentena permanece identificando al equipo o área hasta que se obtiene un resultado satisfactorio.

2.2 Justificación

De acuerdo a las buenas prácticas de manufactura, la contaminación cruzada es la contaminación de materia prima, producto intermedio o producto terminado con cualquier otro material de partida o producto durante la fabricación. Con el objetivo de reducir al mínimo el riesgo de contaminación cruzada, se deben tener instalaciones aisladas, independientes y autónomas para la fabricación de ciertos productos farmacéuticos. Asimismo, se debe contar con un plan de limpieza que asegure la eliminación de trazas de producto terminado para iniciar la fabricación de uno nuevo ³.

Se tomaron en consideración todos los productos líquidos que se fabrican en el laboratorio farmacéutico para la evaluación del procedimiento de limpieza del área y de los equipos de manufactura. Sin embargo, en este estudio se decidió trabajar con Betametasona y Prednisolona, por preferencia de la empresa. Ambos productos se fabrican en campaña; con el propósito de disminuir la frecuencia de fabricación de productos esteroideos y la posibilidad de contaminación cruzada.

El motivo por el cual se escogió evaluar la limpieza de estos principios activos se debe a sus características toxicológicas a bajas dosis. Ambos, la Betametasona y Prednisolona, pertenecen al grupo de los corticoides y son derivados de la cortisona. Los efectos colaterales de la cortisona son varios, razón por la cual se tuvo que buscar derivados de la cortisona que tuvieran mayor efecto terapéutico y menos efectos secundarios. A pesar de que se logró reducir la cantidad de efectos adversos, los corticoides a largo plazo pueden causar glaucoma, retención de líquidos, hipertensión, alteraciones en el sistema nervioso central, alteraciones metabólicas de los lípidos que conduce al Síndrome de Cushing, hiperglucemia que conduce a diabetes, osteoporosis y miopatías; estos efectos dependerán de las dosis y la vía de administración. La vía de administración oral es la más probable en causar efectos significativos debido a que su distribución sistémica lleva el metabolito activo a todas las partes del cuerpo ⁴.

Los corticoides tienen su efecto terapéutico al ser administrados en dosis bajas, por lo que los efectos mencionados anteriormente pueden darse si existen trazas de Betametasona o Prednisolona, a causa de una limpieza ineficiente, en otros productos que se vean afectados por contaminación cruzada. Es por esto que la limpieza de los equipos y áreas involucradas en la fabricación de productos esteroideos es tan importante y delicada, pero igual de importante que la limpieza debe ser el método analítico que se utilizará para la cuantificación de los principios activos. Este método debe ser sensible y efectivo para detectar trazas de esteroides; en este estudio se utilizará el límite máximo de 10 partes por millón, por lo que el equipo analítico debe ser capaz de detectar concentraciones menores a este valor para que los resultados se consideren reales y confiables. Se utilizará el método de cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC) para comprobar la efectividad de la limpieza a través del análisis de trazas de Betametasona y Prednisolona.

Los resultados encontrados en este estudio son fundamentales para determinar si el método de limpieza, utilizado en equipos y áreas que se utilizan en la fabricación de corticosteroides, es efectivo para su eliminación.

2.3 Planteamiento del problema

¿Es posible verificar que el método de limpieza empleado en las áreas de metrología y producción de líquidos, y en los equipos que se involucran en la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona es el adecuado, mediante el análisis de trazas, por medio del método de cromatografía líquida de alta eficiencia?

2.4 Alcances y límites

2.4.1 Alcance

Este estudio está centralizado en la evaluación del procedimiento de limpieza de las áreas y equipos que se utilizan en la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona. Por motivos de tiempo y fabricación de lotes, la evaluación se desarrolló de forma retrospectiva; por lo que se revisaron ocho expedientes de análisis de cada producto, realizados entre el 2019 y 2020, con el objetivo de tener resultados estadísticamente significativos y actualizados.

Los resultados obtenidos mediante la revisión de expedientes son de utilidad para la validación del método de limpieza de áreas y equipos que se utilizan en la fabricación de productos esteroideos. Sin embargo, la validación de un procedimiento de limpieza de esta naturaleza debe ser respaldado por una técnica analítica cuantitativa y otra cualitativa. La industria farmacéutica utiliza el método de cromatografía líquida de alta eficiencia como método cuantitativo y el análisis de carbono orgánico

total como método cualitativo. En este estudio se tomará en cuenta únicamente los resultados obtenidos por el método cuantitativo HPLC.

2.4.2 Límites

- Este estudio se limitó al método de limpieza empleado para productos esteroideos, específicamente.
- En el presente no se incluye la evaluación del método de limpieza de áreas y equipos involucrados en la producción de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona por medio el método de análisis cualitativo (TOC).
- No se considera al operario que hace la limpieza y toma las muestras, pues el procedimiento debería ser el mismo ya que así lo dicta la política de la empresa.

3. MARCO TEÓRICO

3.1 Limpieza en la industria farmacéutica

La limpieza y sanitización de áreas y equipos en una industria farmacéutica es importante debido a que de esta forma se logra eliminar la contaminación, eso, haciendo referencia tanto a impurezas químicas, biológicas o cuerpos extraños ². Cada proceso de fabricación debe ir acompañado de un nivel elevado de limpieza y sanitización; incluyendo áreas, equipos y personal ³. En la industria farmacéutica, este término se divide en dos tipos: la contaminación física, que es aquella que se genera por la presencia de residuos físicos o cuerpos inertes; y la contaminación cruzada, que es aquella contaminación que se produce accidentalmente por la liberación incontrolada de gases, polvos, aerosoles, vapores u organismos a partir de materias primas y productos durante su fabricación, a partir de los residuos del equipo y la ropa de los operarios ¹⁶.

La limpieza se define como la eliminación de cualquier suciedad o impureza que se encuentre en un objeto o superficie, mientras que la sanitización La sanitización o desinfección hace referencia a la reducción o disminución de microorganismos y a la inhibición del crecimiento microbiano para reducir su actividad por medio de agentes químicos y/o métodos físicos a un nivel que no afecta al ser humano. Tanto la limpieza como la sanitización son actividades recíprocas e imprescindibles para cumplir las Buenas Prácticas de Manufactura; sin embargo la limpieza siempre debe ir antes de la sanitización para disminuir la contaminación física y después la carga microbiana sobre equipos y áreas ¹.

La limpieza en la industria farmacéutica se puede llevar a cabo por tres formas: manual, semiautomática o totalmente automática. El objetivo de esta industria es llegar a la limpieza totalmente automática ya que se desea reducir al mínimo la intervención humana para disminuir errores manuales. Cada uno de estos tipos cuenta con sus ventajas y desventajas. Por ejemplo, la limpieza manual es realizada por un operario, utilizando productos de limpieza, y el resultado depende directamente de la eficiencia de la persona que realizó el proceso, por lo que el método no es reproducible; sin embargo se tiene la ventaja de que el operario tiene fácil acceso a los puntos o áreas críticas de los equipos y superficies. En el caso de la limpieza semiautomática, los equipos no deben desarmarse y la intervención del operario es mínima, pero importante para que se lleve a cabo la limpieza. La limpieza automática no requiere la ayuda de un operario, es totalmente automatizada y, generalmente, no requiere que los equipos sean desarmados; los mecanismos de limpieza son de aspersión o flujo de detergentes o solventes; este método se realiza bajo condiciones predeterminadas, por lo que es reproducible ⁵.

3.1.1 Procedimiento estándar de limpieza

La limpieza se realizan conforme se indica en el procedimiento operativo estándar de limpieza de área y equipo emitido por la industria farmacéutica. A continuación se describe el proceso de limpieza que se utiliza en la planta de producción de líquidos:

- USO LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN EN ÁREAS DE PRODUCCIÓN, CÓDIGO PP-PEO-LSAP-12.1.1:

Objetivo: Describir el procedimiento de limpieza y sanitización de áreas de producción.

Frecuencia: Se realiza este procedimiento antes y después de la producción de un producto.

Material y equipo: Guantes, mascarilla, cofia, mopas de microfibra con fibras gruesas, paño de microfibra, limpia ventanas, solución de detergente neutro, solución sanitizante no corrosiva, alcohol isopropílico al 70%.

Procedimiento:

1. Preparar los implementos de limpieza, al finalizar la jornada laboral colocar la etiqueta de identificación de equipo o área sucia y retirar el polvo o exceso de residuos de las superficies
2. Trasladar equipo a área de lavado.
3. Para limpiar el techo y las paredes; limpiar de las esquinas hacia el centro con una mopa de microfibra con fibras gruesas humedecida en agua para retirar exceso de residuos, lavar la mopa, humedecerla en solución de detergente neutro y repetir la limpieza, retirar el detergente con la mopa y abundante agua, lavar la mopa, humedecerla en solución sanitizante correspondiente según el programa de sanitización y repetir la limpieza.
4. Para limpiar las ventanas; humedecer un limpia ventanas en alcohol isopropílico al 70% y pasarlo sobre el marco de la ventana y por la superficie de la ventana, retirar el líquido con el mismo limpia ventana, utilizando el lado que tiene hule, con movimientos rectos y parejos, finalmente, dejar secar.
5. Para limpiar los pisos; humedecer la mopa de microfibra de fibra corta con detergente neutro y realizar la limpieza con movimientos horizontales para eliminar residuos, con la mopa limpia y agua retirar el exceso de la solución de detergente, lavar la mopa con solución sanitizante correspondiente y realizar nuevamente la limpieza, retirar solución con la mopa humedecida en agua. Colocar la etiqueta de identificación de área limpia

Si las áreas no se utilizan el día que se realizó limpieza, el día siguiente se deberá sanitizar únicamente con la solución sanitizante correspondiente.

- USO LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE EQUIPOS DE PRODUCCIÓN, CÓDIGO PP-PEO-ULSE-9.1.4:

Objetivo: Describir el procedimiento de limpieza y sanitización de equipos de producción.

Frecuencia: Se realiza este procedimiento antes y después de la producción de un producto.

Material y equipo: Guantes, mascarilla, cofia, toalla de microfibra, solución de detergente neutro, solución sanitizante no corrosiva, alcohol isopropílico al 70%.

Procedimiento:

1. Al finalizar la jornada laboral colocar etiqueta de equipo sucio con el nombre y número de lote del último producto trabajado.
2. Desmontar el equipo y trasladarlo al área de lavado, seguir el procedimiento propio de cada equipo de producción.
3. Verificar visualmente que los equipos estén libres de residuos.
4. Secar las partes con aire comprimido o con una toalla de microfibra para retirar el exceso de agua.
5. Volver a montar las piezas.
6. Colocar bolsa de equipo limpio
7. Colocar etiqueta de equipo limpio.

Antes de iniciar la jornada laboral volver a asperjar solución de alcohol isopropílico a la concentración correspondiente para cada equipo.

Los procedimientos estándar operativos están basados según el Reglamento Técnico Centroamericano 11:03.42:07⁸. Las etiquetas de área y equipo limpio y sucio se encuentran en la sección de anexos. Los procedimientos de limpieza de cada equipo se describen en la sección de limpieza de equipos.

3.1.2 Detergentes y solventes de limpieza

Los detergentes y solventes de limpieza son agentes limpiadores que se utilizan con el fin de eliminar la contaminación de las áreas y los equipos utilizados en la fabricación de productos farmacéuticos. Algunos de ellos se utilizan en combinación para que se compartan propiedades físicas y químicas, y que la limpieza sea más efectiva. Los agentes limpiadores deben contar con propiedades específicas:¹⁷

- Humectación: capacidad del agente de limpieza de mojar y abarcar el área de contacto que se desea limpiar¹⁷.
- Penetración: capacidad del agente limpiador de penetrar las superficies y remover efectivamente la suciedad¹⁷.

- Emulsión: capacidad de la sustancia de dispersar las partículas de un líquido en otro, por ejemplo, dispersar el aceite en el agua con detergente ¹⁷.
- Suspensión: capacidad del detergente o solvente de limpieza de dejar la suciedad en remojo, para evitar que las partículas se vuelvan a depositar en el área o equipo ¹⁷.

La elección de un detergente es crítica, debido a que este determinará la eficacia del procedimiento de limpieza. Existen ciertos criterios que pueden tomarse en cuenta para elegir el detergente óptimo y son los siguientes: ⁵

- Evaluar la naturaleza del contaminante, es orgánico o inorgánico.
- Determinar el estado de la suciedad, es húmedo o seco.
- Considerar la naturaleza de la superficie a limpiar, se debe mantener su integridad.
- Tener en cuenta la toxicidad del detergente, este debe ser el menos tóxico posible para la seguridad del personal y el medio ambiente.
- Revisar las propiedades del detergente; que sea eficaz, estable a altas temperaturas, fácil de limpiar, capaz de ser cuantificado a bajas concentraciones.

A continuación se muestra una figura en la cual se puede basar la elección del detergente:

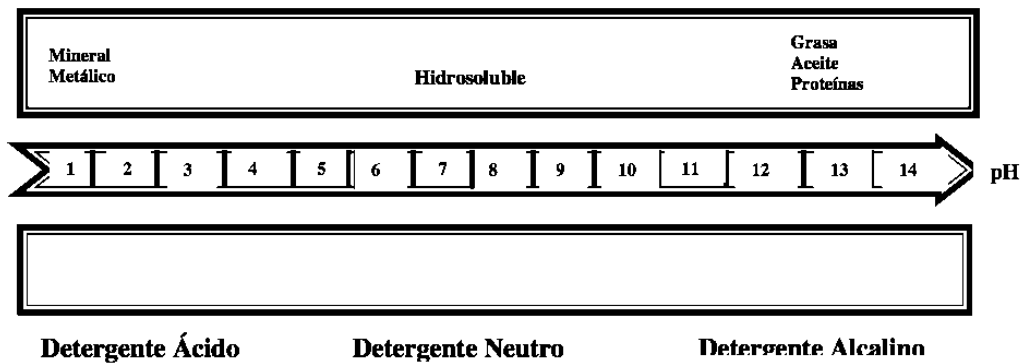


Figura No.1 Diagrama representativo para la elección de un detergente ⁵

Los solventes de limpieza se clasifican en grupos. El cloro y los productos basados en cloro pertenecen al grupo más grande y común de solventes desinfectantes. Los solventes de amonio cuaternario son utilizados generalmente para la limpieza de pisos y superficies frías. Los compuestos yodóforos, que son los que se derivan del yodo, son coadyuvantes ya que potencian la acción de las demás soluciones de limpieza. Existen también desinfectantes ácidos y estos tienen la ventaja principal de ser muy estables a altas temperaturas y en presencia de materia orgánica ¹⁸.

En la industria farmacéutica donde se trabajó este estudio se utiliza un plan de limpieza en el que cada semana se utiliza un solvente de limpieza distinto; además, el detergente neutro se utiliza como coadyuvante en algunos casos. Los detergentes y solventes utilizados para la limpieza y sanitización de equipos y áreas son fabricados en la planta de producción de líquidos y son los siguientes:

- Hipoclorito de sodio: se utiliza una solución de hipoclorito de sodio 120 ppm. Esta solución es eficaz ante un amplio espectro de bacterias y hongos, actúa bien a temperatura ambiente y es relativamente barato. No es recomendable utilizarla en combinación con detergentes ya que puede ser peligroso ¹⁸.
- Cloruro de benzalconio: se utiliza una solución de cloruro de benzalconio al 0.3%. Es un detergente catiónico de amonio cuaternario, utilizado como sanitizante de bajo nivel debido a que es eficaz contra algunas especies de bacterias ¹⁹, asimismo, elimina hongos y protozoarios; lo cual lo hace ideal para la esterilización de utensilios y superficies ²⁰.
- Amonio cuaternario: se utiliza una solución de amonio cuaternario, de 5ta generación, 200 ppm. Esta solución elimina un gran número de microorganismos, pero el tiempo de exposición para que actúe es bastante largo. Es un solvente muy estable y es un desinfectante que actúa por más tiempo que todos los demás, debido a este efecto residual se utiliza principalmente en la limpieza de pisos y superficies frías ¹⁸.
- Alcohol isopropílico: se utiliza una solución de alcohol isopropílico al 70%. Esta concentración es óptima para la alteración y precipitación de proteínas para reducir la tensión superficial de las bacterias, dándole una propiedad bactericida a la solución. No es corrosivo pero se debe tener cuidado ya que posee una característica inflamable y explosiva. Su actividad residual es pobre debido a su rápida evaporación ¹⁹.
- Detergente neutro: los detergentes actúan como coadyuvantes en la industria farmacéutica y poseen mecanismos de limpieza que juntamente sirven para la penetración, disolución y enjuague de residuos; estos mecanismos son de mojabilidad, solubilidad, dispersión, emulsificación, hidrólisis y oxidación. El detergente neutro es comúnmente utilizado en los procedimientos de limpieza manual o con sustratos sensibles ya que son altamente compatibles ²¹.

3.1.3 Limpieza de áreas

El laboratorio farmacéutico debe contar con un plan de limpieza y sanitización por escrito en donde se especifiquen las áreas que deben limpiarse, el método de limpieza, la solución o detergente, la persona responsable de limpiar el área y la frecuencia con la que se debe hacer esta actividad ¹⁸.

Además, debe contar con criterios establecidos para la limpieza y sanitización de áreas que contemple la limpieza posterior a un cambio de producto, la limpieza entre días, aunque se siga trabajando el mismo producto, y la limpieza posterior entre cambios de lotes ¹⁵. La descripción del procedimiento de limpieza de áreas se describe en el documento PP-PEO-LSAP-12.1.1.

3.1.4 Limpieza de equipos

El laboratorio productor debe contar con criterios establecidos para la limpieza y sanitización de los equipos que contemple la limpieza posterior a un cambio de producto, la limpieza entre días, aunque se siga trabajando el mismo producto, y la limpieza posterior entre cambios de lotes ¹⁵.

La limpieza de los equipos se clasifica dependiendo del diseño del mismo. Todos los equipos que cuenten con una boquilla de extracción pueden limpiarse sin ser desmontados por medio del proceso de limpieza en el lugar o CIP. En caso que los equipos deban ser desarmados para realizar la limpieza, el método de limpieza a utilizar es el proceso de limpieza fuera de lugar o COP ¹⁸.

El CIP o *Clean in place* es un procedimiento de lavado automático en donde se utilizan soluciones que son recirculadas por medio de bombas peristálticas de alta presión. Este método es adecuado para los equipos en donde se fabrican líquidos y semisólidos. Este tipo de instalaciones son costosas y puede que no funcionen para todos los equipos de producción ⁵.

El COP o *Clean out of place* es un procedimiento de lavado semiautomático en donde se debe desarmar el equipo y llevar cada pieza al cuarto de lavado en donde un tanque realizará la limpieza por ciclos, utilizando distintos detergentes y soluciones, a presión y con temperatura definida ⁵.

A continuación se describen los equipos con su procedimiento operativo estándar de limpieza:

- LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE BALANZA SEMIANALÍTICA, CÓDIGO PPS-PEO-UBSR-9.1.2
 1. Retirar el exceso de polvo con una brocha, esta brocha debe ser aquella que se utiliza exclusivamente para la producción de esteroides.
 2. Cuidar que la balanza no tenga contacto con soluciones que puedan dañar su funcionamiento.
 3. Humedecer mínimamente un limpiador con alcohol isopropílico al 70% y limpiar la base de la balanza.
 4. Colocar la identificación de equipo limpio.

- LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE TANQUES PARA LA FABRICACIÓN DE LÍQUIDOS, CÓDIGO PPL-PEO-ULTL-9.1.2
 1. Trasladar tanque al área de lavado
 2. Pasar agua purificada por dentro y por fuera del tanque para remover el material que se trabajó.
 3. Lavar con solución de detergente neutro y remover toda la suciedad con un cepillo, tanto por dentro como por fuera.
 4. Mantener la llave cerrada del tanque y enjuagar con agua purificada, remover toda la solución jabonosa.
 5. Lavar con solución sanitizante no corrosiva y removerla con agua purificada.
 6. Lavar la tapadera del tanque y la regla de medición con solución de detergente neutro y removerla con agua purificada.
 7. Quitar la llave y lavarla con un choconoy, posteriormente dejarla remojando en solución sanitizante por 30 minutos.
 8. Retirar la llave de la solución y lavarla con abundante agua purificada.
 9. Sanitizar con alcohol isopropílico al 70%.
 10. Cubrir con bolsa de nylon.
 11. Colocar etiqueta de equipo limpio.

- LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE MEZCLADOR DE VELOCIDAD VARIABLE, CÓDIGO PPL-PEO-UMVV-9.1.2
 1. Para el motor; frotar con limpiador humedecido en alcohol isopropílico al 70% para eliminar grasa y suciedad. No utilizar soluciones corrosivas.
 2. Para el aspa; pasar limpiador húmedo por sus partes, lavar con detergente neutro, enjuagar con agua purificada para retirar solución jabonosa, eliminar el exceso de humedad con limpiadores secos y asperjar solución sanitizante.

- LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE FILTRO PRENSA CON FUNCIÓN TRASVASADORA, CÓDIGO PPL-PEO-ULSF-9.1.2
 1. Preparar cantidad suficiente de solución de detergente neutro no corrosiva y solución sanitizante.
 2. Encender equipo y hacer circular la solución de detergente por varios minutos.
 3. Recircular agua para eliminar residuos de detergente.
 4. Recircular la solución sanitizante .
 5. Retirar las placas y lavarlas con detergente neutro y dejarlas reposar por 30 minutos.
 6. Lavar placas con solución sanitizante.
 7. Asperjar alcohol isopropílico al 70%.

8. Cubrir con bolsa de nylon.
 9. Colocar etiqueta de equipo limpio.
- LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE HOMOGENIZADOR Y MEZCLADOR VERTICAL, CÓDIGO PPL-PEO-UHMV-9.1.2
 1. Pasar un limpiador húmedo por todas sus partes.
 2. Lavar con solución de detergente neutro y enjuagar con abundante agua.
 3. Lavar con solución sanitizante no corrosiva y enjuagar con abundante agua.
 4. Retirar el exceso con limpiadores secos.
 5. Limpiar con alcohol isopropílico al 70%.
 6. Colocar etiqueta de equipo limpio.
 7. El panel de encendido debe limpiarse únicamente con alcohol isopropílico.
 - LIMPIEZA Y SANITIZACIÓN DE LLENADORA DE LÍQUIDOS, CÓDIGO PPL-PEO-ULLL-9.1.2
 1. Dejar pasar agua purificada por el equipo para eliminar residuos.
 2. Desmontar el equipo.
 3. Lavar pieza por pieza con detergente neutro y solución sanitizante.
 4. Enjuagar con abundante agua.
 5. Para las mangueras; lavarlas con choconoy, sumergirlas en solución de agua con cloro, enjuagar con abundante agua, secarlas y guardarlas en bolsas.
 6. Rearmar el equipo, sin colocar las mangueras, estas se colocan hasta corroborar que producto se trabajará.
 7. Colocar una bolsa nylon sobre el equipo.
 8. Colocar etiqueta de equipo limpio.

3.1.5 Caducidad de la limpieza

La caducidad de la limpieza dependerá del tipo de limpieza que se realizó en el área o equipo. Existen dos tipos de limpieza:

- Limpieza ordinaria: es una limpieza superficial realizada después de la fabricación continua de un mismo producto, pero diferentes lotes, hasta un máximo de cinco lotes seguidos o catorce días después de la fabricación del primer lote. Después de cualquiera de estos dos límites se debe recurrir a la limpieza radical ²².
- Limpieza radical: consiste en una limpieza profunda; esta se realiza después de la fabricación de cinco lotes de un mismo producto o catorce días después de la fabricación del primer lote,

antes de comenzar la fabricación de un nuevo producto, después de darle mantenimiento al equipo y después de un período mayor a tres días con el equipo sucio y sin uso ²².

La vigencia de cada limpieza es distinta. Para la limpieza ordinaria se tiene una vigencia de 24 horas, mientras que la limpieza radical tiene una vigencia de 72 horas ¹³.

3.2 Validación

La validación se define como el establecimiento de evidencia documental que asegura que un procedimiento conducirá a la reproducibilidad de resultados ²³; esta es una parte importante de las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) y debe ser efectuada conforme a protocolos definidos. Se trata de un informe escrito que contiene resumidamente los resultados y las conclusiones de procesos y procedimientos sobre la base de un estudio de validación, y estos deben someterse periódicamente a una revalidación para asegurar la calidad de los resultados ³.

Las etapas a las cuales un procedimiento debe ser sometido son las siguientes ²⁴:

- La calificación de diseño (DQ) es la primera etapa y en ella se recopila evidencia documentada de que el diseño de las instalaciones y equipos es conveniente y cumplirá con el objetivo establecido ²⁴.
- La calificación de instalación (IQ) es en donde se demuestra que la evidencia documental de equipos y servicios de las instalaciones están instalados adecuadamente. Además, se verifica la identificación, ubicación, servicios auxiliares, energía eléctrica y seguridad del operario ²⁴.
- La calificación de operación (OQ) es la etapa en donde se comprueba mediante pruebas que los parámetros de operación de instalaciones y equipos a utilizar funcionen y operen de la manera esperada ²⁴.
- Finalmente, la calificación de desempeño (PQ) son todas aquellas pruebas por medio de las cuales se puede demostrar que, al iniciar el funcionamiento del equipo, los resultados obtenidos son efectivos, estables y cumplen con los requerimientos necesarios ²⁴.

3.2.1 Validación de limpieza

La validación de limpieza es importante dentro de la industria farmacéutica debido a que a través de ella es posible confirmar la efectividad de cualquier procedimiento de limpieza de todas las áreas y equipos que estén en contacto con el producto activo ⁹. Generalmente, la validación de limpieza aplica únicamente a superficies que están en contacto con el principio activo; sin embargo se tomaron en cuenta algunas áreas que no están expuestas al producto, como las paredes del área de metrología y de

líquidos, debido a que al momento de manipular la materia prima, el polvo se distribuye en el ambiente y se adhiere en estas áreas. Con esta validación se puede asegurar que los residuos del principio activo serán eliminados antes de que comience la producción de un nuevo producto, y, que los productos fabricados se encuentran dentro de las especificaciones de calidad ya que no contienen contaminantes¹⁰.

Para comprobar que un método de limpieza está validado, este debe desarrollarse un número apropiado de veces, basado en una evaluación de riesgos, y siempre se deben cumplir con los criterios de aceptación descritos por entidades mayores como la USP, OMS, entre otros⁹. Estos criterios deben ser alcanzables y el resultado debe ser lo más exacto posible. Los métodos analíticos utilizados para la comprobación de la limpieza deben estar validados y deben tener un límite de detección y cuantificación lo suficientemente sensible para corroborar el nivel de contaminantes o trazas¹⁰.

Existen tres tipos por los cuales se puede llevar a cabo una validación:

- La validación prospectiva, es aquella que se aplica con los productos nuevos o con productos que se fabrican por medio de un proceso de manufactura validado, es efectuada durante la etapa de desarrollo de un producto o cuando se debe hacer un cambio en el proceso de fabricación. Para poder validar un proceso de forma prospectiva es necesaria la fabricación de tres lotes consecutivos con resultados aceptables⁵.
- La validación concurrente, es la forma de validación que se desarrolla durante la producción normal de productos, es decir, el proceso se valida sin parar la producción. Este tipo de validación debe ser justificada, documentada y previamente aprobada por las autoridades sanitarias⁵.
- La validación retrospectiva, se basa en la revisión de datos históricos existentes que han sido efectuados con anterioridad por la industria farmacéutica para establecer una evidencia documentada de la idoneidad de un proceso. Este tipo de validación se lleva a cabo cuando los procesos no poseen cambios significativos y cuando se dispone de los resultados del control de proceso. Los documentos de ICH Q7 dictan que se generarán resultados significativos si se evalúan de diez a treinta lotes fabricados consecutivamente, sin embargo menos lotes pueden ser evaluados dependiendo del caso y los resultados seguirán siendo significativos ya que los lotes seleccionados deben ser representativos de todos los lotes fabricados durante un período de revisión, además, estos deben ser suficientes para demostrar la consistencia del proceso^{5,15}.

3.2.1.1 Límites de aceptación de residuos

Los límites de aceptación de residuos deben ser factibles y comprobables. Estos límites describen la cantidad máxima del producto de interés que puede existir en las superficies y puntos críticos. No existe una guía que presente el valor exacto de un límite de aceptación estándar; este puede ser determinado de las siguientes formas ¹⁵:

- Específicamente para cada producto.
- Tomar una familia de medicamentos y utilizar el producto considerado el peor caso.
- Agrupar productos de acuerdo a sus características (solubilidad, toxicidad, dificultad para detectar, etc).
- Utilizar distintos factores de seguridad para distintas formas de dosificación basándose en la respuesta fisiológica si se tienen principios activos con alta potencia.

Los principales criterios de aceptación se describen a continuación: inspección visual, dosis terapéutica, información toxicológica y criterio de las 10 partes por millón ¹⁵.

3.2.1.2 Inspección visual de limpieza

El método de inspección visual de limpieza es un método subjetivo y no cuantitativo, este es utilizado como primer criterio de evaluación de ausencia de residuos del producto producido y es complementado por los demás criterios a utilizar. Para efectuar la inspección visual se debe desarmar el equipo, evaluar si este se encuentra limpio y proceder a realizar las demás pruebas. Si el equipo no se encuentra visiblemente limpio, no se debe proceder con los ensayos que le siguen, ya que esto demuestra que el proceso de limpieza fue inadecuado ¹⁷.

3.2.1.3 Dosis terapéutica

El uso de la dosis terapéutica es útil para calcular residuos de ingredientes activos con dosis conocidas ²⁵. Para la mayoría de fármacos se utiliza un factor de seguridad de 0.1% de la dosis terapéutica normal, esto significa que no más de este porcentaje puede aparecer en el producto fabricado posteriormente. Este concepto es útil cuando se utilizan ingredientes activos con dosis farmacológicas conocidas ²⁶.

3.2.1.4 Información toxicológica

El efecto tóxico de un componente en el cuerpo humano es estimado a través de la toxicidad de la sustancia en animales, utilizando el factor de dosis media letal (LD₅₀). Esta medida provee los datos en unidades de miligramo de la sustancia por kilogramo del peso del animal de experimentación y es la dosis a la cual mueren la mitad de los animales participantes de un estudio. Existen fórmulas para convertir este dato a ADI que es la dosis diaria aceptable para humanos; sin

embargo, se debe tomar en cuenta la vía de administración, debe ser la misma tanto en animales como en humanos. Este es el método más generalizado para calcular los límites de residuos pero es útil cuando se desconoce la dosis del analito de interés ²⁵.

3.2.1.5 Criterio de las 10 partes por millón

También llamado el límite por defecto. Este criterio proviene de regulaciones que aplican a productos alimenticios, en esas regulaciones existen sustancias que pueden ser peligrosas y se debía concretar un valor aceptable en tejidos ²⁷. Más adelante fue propuesto por la FDA en un documento guía sobre la validación de procesos de limpieza farmacéutica y es útil cuando no se han establecido otros criterios más específicos para el control de algún residuo. El valor de las 10 ppm es el límite máximo aceptable de residuos ²⁵.

3.2.2 Proceso de manufactura

El proceso de manufactura de formas farmacéuticas líquidas posee algunos aspectos críticos que se deben tener la planta de producción ²⁸:

- Sistema de calefacción, ventilación y aire acondicionado: estos ayudan a asegurar las condiciones óptimas de manufactura. Las temperaturas son críticas ya que el producto se puede ver afectado en su estabilidad física y química ²⁸.
- Aislamiento de procesos: el aislamiento de procesos es útil para evitar la contaminación cruzada y que la calidad final del producto no se vea afectado ²⁸.
- Limpieza y desinfección de líneas de transferencia: las tuberías que se utilizan en el proceso de producción deben ser duras, higienizadas y de fácil limpieza, se debe evitar la acumulación de humedad y contaminación microbiológica. Para evitar contaminación cruzada es recomendable utilizar una tubería especial para cada tipo de producto ²⁸.
- Volumen final: el volumen final del producto se ve afectado por el calor; una solución a temperatura ambiente puede reducir su volumen al ser calentada porque se evapora, por esta razón es importante que la temperatura sea estrictamente controlada durante todo el proceso ²⁸.

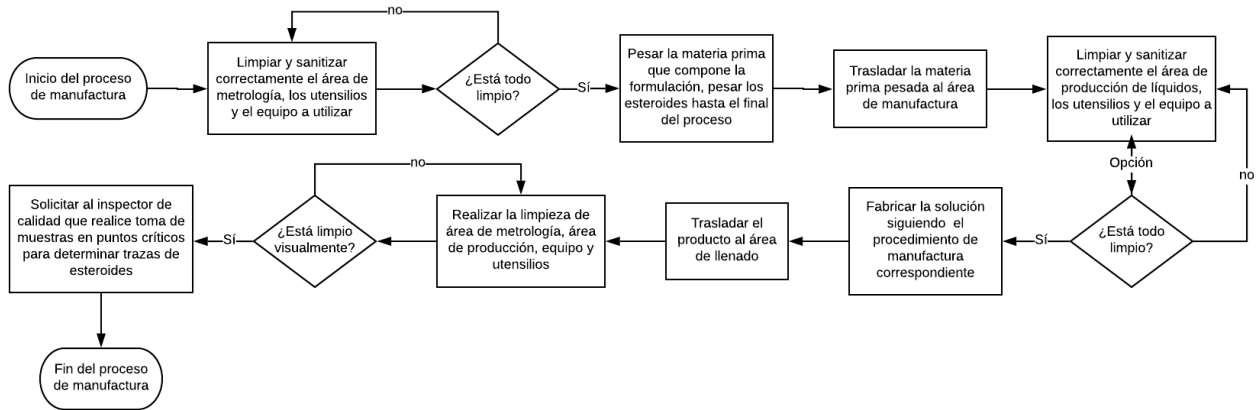


Figura No.2 Proceso de manufactura de soluciones esteroideas

3.2.2.1 Listado de equipos que intervienen en el proceso de betametasona y prednisolona

A continuación se presentarán los equipos y áreas que se utilizan en la fabricación de esteroides. Cabe mencionar que los utensilios que intervienen en el proceso de manufactura como: espátulas, probetas, picheles, etc., son específicos para la producción de esteroides. Por este motivo no se toman muestras de los mismos y no se mencionan en la siguiente tabla:

Equipo	Etapas del proceso
Balanza	Metrología
Tanque 500 L	Fabricación
Tanque 250 L	Fabricación
Tanque 180 L	Fabricación
Mezclador	Fabricación
Filtro prensa	Fabricación
Llenadora de líquidos	Llenado

Tabla No.1 Equipos que intervienen en el proceso de manufactura de betametasona y prednisolona

3.2.3 Puntos de muestreo

Posterior a la limpieza de los equipos y áreas en las que se trabajó con productos esteroideos se toman muestras en puntos críticos. Dependiendo del punto, la muestra se toma por el método de hisopado o enjuague. Es importante colocar la etiqueta de cuarentena en los equipos y áreas muestreadas para que se sepa que no se pueden utilizar. Al tener las muestras, estas son analizadas en el laboratorio fisicoquímico para cuantificar la cantidad de residuos y en base a los resultados, se emiten las etiquetas de liberación para áreas y equipos. Si el resultado fuera mayor al aceptable se

deberá informar al supervisor de producción para que se realice nuevamente la limpieza y repetir el proceso de muestreo.

A continuación se describen los equipos, las áreas, los puntos de muestreo, el tipo de muestreo, el área superficial que se muestrea, la muestra y los límites de aceptación:

Etapa del proceso	Equipo	Punto de muestreo	Tipo de muestreo	Área de muestreo (cm ²)	Muestra	Límite de aceptación
Metrología	Balanza	Plato	Hisopado	N/A	PA	< 10 ppm
Metrología	Mesa	Superficie	Hisopado	N/A	PA	< 10 ppm
Metrología	Pared	Pared	Hisopado	54,988	PA	< 10 ppm
Fabricación	Pared	Pared	Hisopado	80,051	PA	< 10 ppm
Fabricación	Tanque 500 L	Pared	Enjuague	N/A	AgL	< 10 ppm
		Llave	Hisopado	40,212	PA	< 10 ppm
Fabricación	Tanque 250 L	Pared	Enjuague	N/A	AgL	< 10 ppm
		Llave	Hisopado	27,269	PA	< 10 ppm
Fabricación	Tanque 180 L	Pared	Enjuague	N/A	AgL	< 10 ppm
		Llave	Hisopado	18,692	PA	< 10 ppm
Fabricación	Mezclador	Aspa	Hisopado	N/A	PA	< 10 ppm
Fabricación	Filtro prensa	Platos	Hisopado	N/A	PA	< 10 ppm
Llenado	Llenadora	Pistones	Enjuague	N/A	PA	< 10 ppm

N/A: No Aplica; PA: Principio Activo; AgL: Agente de Limpieza

Tabla No.2 Características y puntos de muestreo de equipos y áreas

3.2.4 Métodos de muestreo

Es el método por el cual se toman las muestras a ser analizadas con la técnica de elección. Al momento de elegir el método de muestreo se debe tomar en cuenta que este sea apto para la recolección de residuos solubles e insolubles. Las muestras recolectadas se deberán manejar con sumo cuidado al momento de identificarlas, conservarlas y trasladarlas, para evitar confusión y deterioro de las mismas. Se reconocen como aceptables dos métodos de muestreo, el directo o muestreo por hisopado, y el indirecto o muestreo por enjuague²⁹.

3.2.4.1 Método de hisopado

También llamado método directo de muestreo; es el más utilizado. Es ideal para muestrear superficies irregulares del equipo y piezas fácilmente desmontables. Antes de iniciar la técnica, las BPM exigen que los protocolos de limpieza declaren los puntos críticos de los equipos a muestrear, juntamente con su ubicación³⁰. El método consiste en frotar un hisopo de material inerte sobre la superficie que se desea muestrear; es importante saber el material del cual está fabricado el hisopo ya que puede interferir con los resultados del muestreo. Al momento de realizar la toma de muestras se deberá tomar en consideración²⁹:

- El área dimensional, utilizar entre un 10-20% del área en contacto con el producto.
- La naturaleza del sitio de muestreo.
- La selección de los puntos a muestrear.
- La selección de torundas e hisopos, estos deben ser inertes y no deben generar interferencia con el método de ensayo, ya sea que se utilicen secos o húmedos.

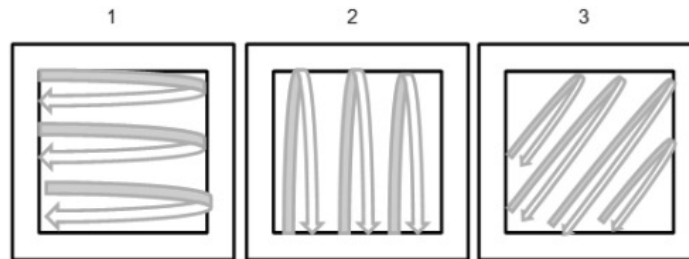


Figura No.3 Técnica de muestreo por hisopado ¹⁵

3.2.4.2 Método de enjuague

También llamado método indirecto de muestreo; y es útil para muestrear superficies muy grandes y puntos inaccesibles en equipos que no pueden ser desmontados. Asimismo, es útil para el análisis y control de residuos de los agentes de limpieza. Esta técnica consiste en lavar el equipo con el procedimiento de limpieza establecido por la industria farmacéutica, desaguarlo y volverlo a llenar con agua; de esta agua se toma una muestra y se analiza para buscar trazas del analito de interés ³¹.

3.2.5 Métodos analíticos para análisis de limpieza

Los métodos de análisis son los procesos por los cuales se realiza la cuantificación de algún principio activo. Según las Buenas Prácticas de Manufactura, para asegurar la confiabilidad de los métodos, estos deben ser sometidos a una validación en la cual se determinan parámetros como linealidad, sensibilidad, exactitud, precisión, robustez, selectividad y límites de cuantificación ³². Existen categorías útiles para clasificar procedimientos que se deben validar:

- Categoría I: pruebas que cuantifican principio activo ³³.
- Categoría II: pruebas que determinan impurezas o valores límites para el control de impurezas, estas pruebas pueden ser cuantitativas o cualitativas ³³.
- Categoría III: pruebas que demuestran el desempeño de los medicamentos ³³.
- Categoría IV: pruebas de identificación, son aquellas que aseguran la identidad de un analito en una muestra ³³.
- Pruebas microbiológicas: pruebas que se realizan con el fin de asegurar la calidad microbiana de un medicamento ³³.

La elección del método analítico es difícil, sin embargo existen dos tipos de métodos que simplifican la decisión: específicos y no específicos. Al momento de elegir se debe tomar en cuenta criterios de sensibilidad, especificidad y límite de detección. La FDA recomienda utilizar métodos específicos para una validación de limpieza, sin embargo se aceptan métodos no específicos si su uso se justifica correctamente⁵. A continuación se describen ambos tipos de método:

- Método no específico: también llamados métodos cualitativos, estos métodos son generales, es decir, detectan cualquier compuesto que produce una respuesta, por lo que únicamente sirven para revelar la identidad de los componentes de una muestra. Los resultados de estas pruebas se expresan en palabras, nombres o símbolos de átomos, moléculas o iones³⁴. Por ejemplo el TOC, pH, conductividad. Ventajas de estos métodos son: su fácil desarrollo y detecta varios residuos juntos; una desventaja es que no permite aislar compuestos⁵.
- Métodos específicos: también llamados métodos cuantitativos y se caracterizan por su capacidad de identificar y cuantificar cada componente de una muestra. Los resultados de estos métodos es expresado en números, con unidades de medición y especificando a qué compuesto pertenecen estos datos³⁴. La cromatografía líquida de alta resolución, absorción atómica, espectrofotometría de llama, cromatografía de iones son algunos pertenecientes a este tipo. La ventaja de los métodos específicos se basa en la precisión con la que detectan el compuesto a analizar; sin embargo se tienen desventajas como el tiempo de análisis, el tiempo de desarrollo y el elevado costo⁵.

Algunas de las técnicas que se utilizan para la cuantificación de trazas de esteroides son las siguientes:

- TOC (Carbono Orgánico Total)

El análisis de carbono orgánico total es un parámetro utilizado para comprobar la eficacia de los métodos de limpieza para posteriormente efectuar la validación de los mismos. Generalmente, este método se utiliza sobre los métodos de limpieza CIP. Los análisis que se pueden llevar a cabo incluyen trazas de detergentes, desinfectantes y principios activos. Cuando se obtienen los resultados se pueden tener dos distintos escenarios: que cumpla, es decir que el resultado se encuentra bajo los límites establecidos, en este caso no hay necesidad de identificar las moléculas presentes en los residuos; o que no cumpla, de ser así se deberá proseguir con un método de identificación más específico como HPLC, UPLC, etc. Todos los resultados que se obtienen con este método deben ser comparados con un blanco, que es agua tipo reactivo, en la cual se almacenan los hisopos utilizados en el proceso de muestreo¹⁰.

- HPLC (Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia)

Existen varios tipos de cromatografía líquida, sin embargo la de alta eficiencia es la más utilizada. Esta técnica sirve para la separación de los componentes de una mezcla según la interacción de cada uno de ellos con la columna cromatográfica ¹⁵.

3.2.5.1 *Composición de la muestra*

Las muestras que contienen Betametasona y Prednisolona están formuladas como soluciones orales, por lo tanto la muestra está conformada por el principio activo y excipientes que ayudan a dar estabilidad, seguridad y eficacia al producto; estos son: ³⁵

- **Disolventes:** el vehículo más utilizado en formulaciones es el agua ya que carece de sabor, no posee propiedades irritantes y posee un perfil fármaco-toxicológico ideal. En el caso de las soluciones orales se debe utilizar agua purificada, esta no requiere esterilidad ni ausencia total de pirógenos. A pesar de ser el disolvente universal, algunos principios activos no son hidrosolubles por lo que podrían requerir la presencia de cosolventes para mejorar la solubilidad. Algunos cosolventes utilizados son: etanol, se debe tener cuidado en formulaciones pediátricas; propilenglicol, polietilenglicol, glicerol, entre otros ³⁵.
- **Edulcorantes:** estos ayudan a darle un sabor dulce a la formulación, sin embargo pueden aportar viscosidad y propiedades conservantes, dependiendo del edulcorante de elección. Algunos utilizados en la industria farmacéutica son: sacarosa, sorbitol, fructosa, glucosa, sacarina, aspartamo. El edulcorante a utilizar dependerá de la forma farmacéutica, por ejemplo, la sacarosa se utiliza generalmente en jarabes y el sorbitol en formulaciones sin azúcar, ya que no causa hiperglucemia ³⁵.
- **Saborizantes:** utilizados para mejorar las propiedades organolépticas de las formulaciones. Los saborizantes deben escogerse dependiendo de la acción que posee el principio activo, por ejemplo, para antiácidos se prefieren sabores de menta o melocotón. Debido a que la composición de estos excipientes es compleja y poco conocida no se recomiendan para pacientes alérgicos, intolerantes o diabéticos ³⁵.
- **Colorantes:** estos ingredientes están regulados por entidades reguladoras y su uso depende de las normativas de cada país o continente. En Europa, la Agencia Europea del Medicamento (EMA) recomienda no incorporarlos y la mayoría de colorantes están prohibidos por posibles efectos cancerígenos a largo plazo. Se utilizan con el fin de identificar y distinguir productos ³⁵.

- Conservantes: es muy importante incluir conservantes en la formulación de las soluciones orales ya que estos previenen el crecimiento microbiano y la degradación del principio activo. Para la elección del conservante se debe tomar en cuenta el pH de las soluciones, ya que algunos ejercen su propiedad máxima a un determinado valor; asimismo, se debe tomar en cuenta el espectro de cada uno de ellos. Algunos de ellos son: metilparabeno, propilparabeno, benzoato de sodio, etc ³⁵.

3.2.5.2 *Placebo para validación del método analítico de análisis de limpieza*

Para realizar la validación de un método analítico que se emplea para determinación de trazas de esteroides existen dos opciones, según la disposición de placebo. Es recomendable utilizar un placebo ya que este representa la matriz de la muestra. Para realizar el ensayo de exactitud, precisión y linealidad se deben preparar alícuotas con cantidades conocidas del analito a muestrear. Para determinar selectividad es indispensable disponer de impurezas y productos de degradación ³⁶.

3.2.5.3 *Validación de métodos analíticos para análisis de limpieza*

Todas las validaciones deben cumplir con los criterios de aceptación dictados por la FDA. La validación del método analítico se lleva a cabo con el propósito de establecer pruebas documentales que demuestren científicamente que el método cuenta con las características de desempeño adecuadas para cumplir con los requerimientos de limpieza de trazas de esteroides ³³. Por este motivo, es importante que los análisis se validen antes de la validación de limpieza para aumentar la fiabilidad de los resultados a obtener. Los parámetros que se deben considerar en la validación son:

- Selectividad: habilidad del método analítico para diferenciar y separar el analito deseado entre varios componentes de una muestra compleja. Se aplica a métodos en los que dos o más componentes son cuantificados en una matriz compleja ^{37, 38}.
- Precisión: demuestra la concordancia que existe entre los resultados de un análisis individual al ser aplicado en múltiples muestras, es decir, expresa el grado de dispersión entre una serie de datos de múltiples muestreos de una sola muestra. Esta puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad ^{37, 23}.
- Robustez: capacidad del método analítico para permanecer en las mismas condiciones y no verse afectado por variaciones pequeñas de los parámetros del procedimiento. Esta variable provee la fiabilidad del método en condiciones de uso normales ^{37, 23}.

- Especificidad: capacidad del método para evaluar inequívocamente el analito en presencia de los demás componentes de la muestra, como impurezas o productos de degradación ³⁷.
- Límite de detección: cantidad más pequeña del analito que detecta el método en una única medición, con un determinado nivel de confianza, pero no necesariamente se cuantifica con un valor exacto ³⁷.
- Límite de cuantificación: cantidad más pequeña del analito que puede ser cuantitativamente determinada por el método analítico, sin perder su exactitud. Generalmente es utilizado para la cuantificación de impurezas y productos de degradación ³⁷.
- Linealidad: capacidad del método para obtener resultados proporcionales a la concentración de analito dentro de un rango teórico. El intervalo de linealidad es un ámbito que abarca la menor y la mayor concentración del analito que puede tener la muestra ^{37, 23}.
- Intervalo de análisis: intervalo por el cual el método proporciona resultados con una incertidumbre aceptable ³⁹.
- Exactitud: demuestra la proximidad entre los resultados del análisis obtenidos mediante el método analítico y los valores teóricos o verdaderos, determina la veracidad de los resultados ^{37, 23}.

3.2.5.4 *Cromatografía líquida de alta eficiencia (HPLC)*

La cromatografía es un método que posee la capacidad de separar, aislar, identificar y caracterizar los componentes de una mezcla compleja. La cromatografía líquida es una técnica ampliamente utilizada en la industria farmacéutica, principalmente, la cromatografía líquida de alta eficiencia que se basa en la adsorción o dispersión de una fase líquida ¹².

La cromatografía líquida de alta eficiencia se basa en la interacción por polaridad de los componentes de una muestra con la columna. Estas interacciones son de tipo no covalentes y son las que determinan la separación de compuestos ³⁴. Se emplea como técnica preparativa y como método analítico que permite purificar, identificar y cuantificar analitos. Es útil para la separación de macromoléculas, polímeros, aminoácidos, antibióticos, fármacos, esteroides, contaminantes, trazas o metabolitos de drogas, entre otros ¹¹.

El equipo que se utiliza para este método se llama cromatógrafo de HPLC o cromatógrafo de líquidos y está compuesto por, al menos, cinco módulos: sistema de bombeo, inyector de muestras, columna, detector y procesador de datos ⁴⁰.

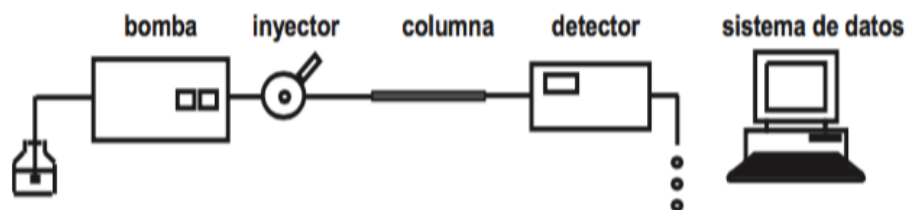


Figura No.4 Módulos incluidos de un cromatógrafo HPLC

- Sistema de bombeo: la bomba impulsa la fase móvil al flujo seleccionado y con la presión necesaria para recorrer la columna y el resto del sistema. Existen dos tipos de bombas: las de flujo constante, por ejemplo las bombas peristálticas, de pistón, de jeringa y rotatorias de paletas; y las de presión constante, como la de intensificador neumático hidráulico ⁴⁰.
- Inyectores y autoinyectores: el inyector debe ser un dispositivo hermético, ubicado entre la salida de la bomba y la columna. Debe ser capaz de incorporar la muestra a la fase móvil. La mayoría de los equipos utilizan inyectores de válvulas debido a que estos aportan reproducibilidad, resistencia a altas presiones y son capaces de inyectar grandes volúmenes ⁴⁰.
- Columnas y precolumnas: las columnas contienen la fase estacionaria, en donde los componentes de la muestra son retenidos. Estas suelen ser de acero inoxidable, miden entre 5-25 cm, y tienen diámetros internos de 3-5 μm . También se utilizan dos precolumnas, la columna de desperdicios se ubica entre el reservorio de fase móvil y el inyector, para acondicionar la fase móvil, y sirve para minimizar la pérdida de la fase estacionaria en la columna analítica al saturar la fase móvil con ácido salicílico. La segunda precolumna es llamada columna de protección y esta se ubica entre el inyector y la columna analítica; su propósito es prevenir que impurezas contaminen la columna analítica ³⁴.
- Detectores: la función de los detectores consiste en responder a las muestras inyectadas, en un régimen de flujo continuo, para la generación de cromatogramas de la señal que emiten ante un tiempo determinado. Existen detectores diferenciales, en donde la señal que producen es diferente a la ocasionada por la fase móvil; y detectores integrales, los cuales generan cromatogramas con picos crecientes, representando el valor acumulado de la señal emitida

ante el tiempo. Dependiendo de la muestra que se está analizando se deben escoger detectores selectivos; sin embargo también existen detectores universales ⁴⁰.

- Sistemas de datos: el sistema de datos está compuesto por el software y una o varias interfaces de comunicación con el cromatógrafo HPLC. Este módulo tiene dos funciones, convertir la señal del detector en cromatogramas para ser evaluados y cuantificados posteriormente, y controlar los módulos del equipo ⁴⁰.
- Cromatograma: son gráficas que revelan los resultados en cuando a tiempo de elución versus la concentración del analito o según la señal que emita el detector. Está constituido por una serie de picos que representan los diversos analitos o componentes de la mezcla analizada ³⁴.

3.3 Betametasona

En la solución que se produce en el laboratorio farmacéutico en donde se llevó a cabo la investigación se utiliza Betametasona base en una concentración de 0.25mg + 5mg loratadina por cada 120mL.

La Betametasona es un glucocorticoide de acción prolongada que funciona como antiasmático, antialérgico y antiinflamatorio. Es el esteroide antiinflamatorio más potente, 0.6mg de Betametasona tienen la misma potencia que 25mg de cortisona. Asimismo, posee propiedades inmunosupresoras como la producción de leucocitos y la acción de las linfocinas. Su efecto terapéutica comienza a actuar entre 1-3 horas de la administración y persiste de 3-4 días, tiene un metabolismo lento por el hígado y riñón y se elimina por la orina ²⁰.

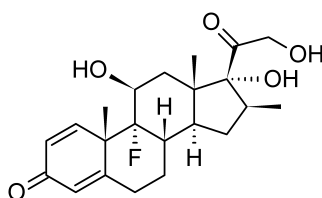


Figura No.5 Estructura química de la betametasona

3.3.1 Propiedades fisicoquímicas

- Identificación: Polvo cristalino blanco o casi blanco. Inodora. ⁴¹
- Solubilidad: Muy soluble en alcohol, soluble en acetona y cloruro de metileno, poco soluble en cloroformo y éter, insoluble en agua ⁶.
- Punto de fusión: entre 231 – 234°C con descomposición ^{6,41}.
- Absorción UV máxima: aproximadamente a 239 nm ⁴².

3.3.2 Uso clínico

Indicada para el tratamiento de alergias severas o que no responden a ningún otro tratamiento, cardiopatía reumática grave o en pacientes que no responden a la terapia convencional, enfermedades de colágeno (durante la exacerbación o como terapia de mantenimiento), enfermedades oculares que presentan inflamación y alergia en su cuadro clínico. También es utilizado como tratamiento paliativo de la leucemia linfocitaria aguda y algunos linfomas ²⁰.

3.3.3 Dosificación

Se utiliza en forma de solución para el alivio de los síntomas severos de dermatitis, urticaria, rinitis, alergias estacionales y alergias alimenticias, asma, conjuntivitis e iridociclitis. Se administra una dosis de 5mL cada 12 horas en niños de 6 – 12 años con peso mayor a 30kg, 2.5mL cada 12 horas en niños de 4 – 6 años con peso igual o menor a 30kg; o a criterio del médico ⁴³.

3.3.4 Efectos secundarios

Puede causar cataratas, glaucoma, hipertensión, retención de agua, hiperlipidemia, úlcera péptica, pancreatitis, miopatía, osteoporosis, cambios de humor, psicosis, acné, inmunosupresión, hiperglucemia, hipocalcemia, acidosis metabólica e insuficiencia suprarrenal ⁴⁴. En cuanto al efecto toxicológico de la betametasona base, LD50 > 4,500 mg/kg ⁴⁵.

3.3.5 Contraindicaciones

Contraindicado en pacientes hipersensibles a Betametasona, con diabetes mellitus, infecciones virales, bacterianas o micóticas, tuberculosis, glaucoma, úlceras pépticas, insuficiencia cardíaca o renal y osteoporosis ²⁰.

3.4 Prednisolona

En la solución que se produce en el laboratorio farmacéutico en donde se llevó a cabo la investigación se utiliza fosfato sódico de prednisolona en una concentración de 15mg/5mL. Aproximadamente 1.2 mg de fosfato sódico de prednisolona equivale a 1.0 mg de prednisolona ⁴⁶.

La prednisolona es un glucocorticoide sintético de acción intermedia que pertenece a las categorías farmacológicas de inmunosupresores, coricosteroides y antiinflamatorios; su actividad antiinflamatoria es cinco veces mayor que la cortisona. También tiene un efecto mineralcorticoide moderado. La prednisolona se metaboliza en el hígado, donde forma su metabolito activo, la prednisolona y se elimina por la orina ^{20, 47}.

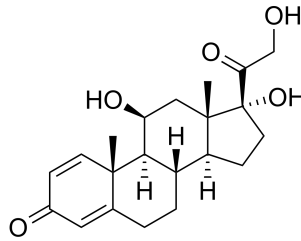


Figura No.6 Estructura química de la prednisolona

3.4.1 Propiedades fisicoquímicas

- Identificación: Polvo cristalino, blanco o amarillento. Levemente higroscópico. Inodoro. Polimórfico ⁷.
- Solubilidad: Soluble en agua y metanol, poco soluble en alcohol y cloroformo, levemente soluble en acetona y dioxano ⁷.
- Punto de fusión: entre 230 – 235°C con descomposición ⁷.
- Absorción UV máxima: 246 nm ⁴².

3.4.2 Uso clínico

Indicada para el tratamiento de enfermedades endocrinológicas como hiperplasia adrenal o tiroiditis no purulenta; alérgicas como reacciones de hipersensibilidad, rinitis o asma; osteomusculares, del colágeno como lupus o fiebre reumática; dermatológicas como eritemas, psoriasis o micosis; oftálmicas, respiratorias como fibrosis pulmonar o tuberculosis fulminante y neoplásicas ^{20, 48}.

3.4.3 Dosificación

Se utiliza en forma de solución para tratar enfermedades inflamatorias y autoinmunes como asma bronquial, alergias e inflamaciones, artritis reumatoide y dermatitis. La dosis dependerá del tipo y severidad de la enfermedad; sin embargo se recomienda administrar 1mg de prednisolona por kg de peso, al día ⁴⁶.

3.4.4 Efectos secundarios

En niños puede provocar obesidad, osteoporosis, supresión adrenal y retardo del crecimiento. Los efectos más comunes son hirtuismo, estrías cutáneas, acné, hiperglucemia, hipertensión, aumenta la susceptibilidad a infecciones, úlceras pépticas, miopatía, trastornos de la conducta, osteoporosis, hipopotasemia, eritemas, convulsiones, entre otras ⁴⁸. En cuanto al efecto toxicológico de la betametasona base, LD50 = 1,680 mg/kg ⁴⁹.

3.4.5 Contraindicaciones

Contraindicado en pacientes hipersensibles a Prednisolona, con diabetes mellitus, herpes del ojo, tuberculosis activa, infecciones virales, bacterianas o micóticas, úlceras pépticas, insuficiencia hepática o renal. Está contraindicada para el tratamiento crónico en niños, mujeres embarazadas y pacientes con enfermedad de Cushing^{20, 47}.

4. MARCO METODOLÓGICO

4.1 Objetivos

4.1.1 Objetivos generales

- Verificar si el método de limpieza empleado por una industria farmacéutica en el área y en los equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona es el adecuado.
- Generar información confiable que permita validar el proceso de limpieza empleado en el área y en los equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales esteroideas en una industria farmacéutica.

4.1.2 Objetivos específicos

- Evaluar el método de limpieza de Betametasona y Prednisolona por medio de los análisis de trazas realizados anteriormente con la técnica cuantitativa de cromatografía líquida de alta eficiencia.
- Determinar si todos los puntos críticos de áreas y equipos involucrados en el proceso de fabricación de las soluciones esteroideas cumplen con la especificación (10 ppm) establecida por el laboratorio farmacéutico.
- Demostrar si se puede continuar con la evaluación de la técnica cualitativa de análisis total de carbono orgánico para la futura validación del método de limpieza empleado en las áreas y equipos en donde se producen soluciones esteroideas de Betametasona y Prednisolona.

4.2 Hipótesis

Es posible determinar la eficacia del método de limpieza empleado en las áreas de metrología y producción de líquidos, y en los equipos que se utilizan en la fabricación de soluciones de Betametasona y Prednisolona mediante el análisis de trazas, por medio del método analítico cuantitativo de cromatografía líquida de alta eficiencia.

4.3 Variables

4.3.1 Variables dependientes:

- Procedimiento de limpieza empleado por la industria farmacéutica
- Equipos que se utiliza en la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona

4.3.2 Variables independientes:

- Concentración de Betametasona y Prednisolona
- Resultados obtenidos por el método de HPLC
- Interpretación de los resultados

4.4 Población

La población de este estudio estuvo conformada por la fabricación de productos farmacéuticos líquidos. El estudio se llevó a cabo, específicamente, en las áreas de metrología y producción de líquidos y se evaluaron los equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona.

4.4.1 Criterios de inclusión:

- Método de limpieza para áreas y equipos que se utilizan en la fabricación de productos esteroideos
- Área de metrología de líquidos
- Área de producción de líquidos
- Superficies que tengan contacto directo con la Betametasona y Prednisolona
- Pared de área de metrología
- Pared de área de fabricación de líquidos
- Equipos que tengan contacto directo con la Betametasona y Prednisolona
- Puntos críticos de los equipos que tengan contacto directo con la Betametasona y Prednisolona

4.4.2 Criterios de exclusión:

- Método de limpieza que no sea para áreas y equipos que se utilizan en la fabricación de productos esteroideos
- Área de metrología de sólidos
- Área de fabricación de sólidos
- Áreas que no se utilicen para la fabricación de Betametasona y Prednisolona
- Equipos que no tengan contacto directo con la Betametasona y Prednisolona
- Equipos que no se utilicen para la fabricación de Betametasona y Prednisolona

4.5 Muestra

Se evaluaron los resultados de la eficiencia de la limpieza, desarrollados en ocho lotes de Betametasona y ocho lotes de Prednisolona, en los puntos críticos de los siguientes equipos:

- 1 balanza
- 1 tanque de 500 L
- 3 tanques de 250 L
- 3 tanques de 180 L
- 1 mezclador
- 1 filtro prensa
- 1 llenadora de líquidos

4.6 Procedimiento

- Revisión bibliográfica con referencias que fundamenten el problema de investigación.
- Elaboración del plan de investigación.
- Desarrollo de la parte operativa del informe de investigación.
- Elaboración del informe de investigación.
- Presentar el informe de investigación.

4.7 Diseño de investigación

La investigación posee un diseño observacional retrospectivo ya que se utilizaron los análisis desarrollados con anterioridad para la recolección de datos como lote, áreas muestreadas, equipo muestreado y concentración de Betametasona y Prednisolona de cada muestra.

4.8 Análisis estadístico

4.8.1 Análisis descriptivo

- Se describieron los equipos que fueron muestreados en cada lote.
- Se obtuvieron los resultados para cada área y equipo.
- Se indicó cuál de las áreas o equipos posee más concentración de trazas esteroideas.

4.8.2 Análisis cuantitativo

- Se determinó la media, la desviación estándar, valor p e intervalo de confianza de la cuantificación de trazas por lote, utilizando un 95% de confianza ($\alpha=0.05$). Estos resultados también fueron clasificados en: “cumple” o “no cumple”.
- Se llevó a cabo el análisis mencionado anteriormente para cada equipo, sin distinción de lote; es decir, se obtuvo la media, desviación estándar, valor p e intervalo de confianza para todos los tanques de 500 L muestreados, para todos los mezcladores muestreados, etc.; utilizando un 95% de confianza ($\alpha=0.05$).
- Se tuvo en cuenta las siguientes hipótesis estadísticas:
 - Ho = 10 ppm; por lo que la limpieza no es eficaz.
 - Ha < 10 ppm; por lo que la limpieza es eficaz.

5. MARCO OPERATIVO

5.1 Recabación y tratamiento de datos

La recabación de datos se llevó a cabo por medio de los expedientes archivados de lotes pasados de Betametasona y Prednisolona. Se utilizó la plataforma de Microsoft Excel, para la introducción y el análisis de los datos obtenidos.

5.2 Recursos

5.2.1 Recursos Humanos

- **Autor:** Keila Sofía Melgar Ruano, estudiante de la Licenciatura en Química Farmacéutica de la Universidad del Valle de Guatemala.
- **Asesor:** Licenciado Marcos Baeza, jefe del departamento de “Control de Calidad” de la empresa Chemilco Internacional S.A.

5.2.2 Recursos Materiales

- Expedientes del historial de fabricación y análisis de trazas de los lotes correspondientes.
- Computadora, que cuente con Microsoft Excel.

6. RESULTADOS

Tabla No.3 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	1.148	Cumple
Pared de fabricación	1.206	Cumple
Balanza 420 g	0.470	Cumple
Balanza 4600 g	1.106	Cumple
Mezclador M-3	0.726	Cumple
Mezclador M-4	1.244	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.466	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	1.320	Cumple
Tapa T-3	1.197	Cumple
Tapa T-5	0.672	Cumple
Filtro prensa	0.003	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de fabricación y el equipo con más concentración de Betametasona es el tanque T-5. El lote 1 y 2 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.4 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2

n	11
Media	0.869
Desviación estándar	0.428
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	10
Intervalo de confianza	0.234
Límite superior	1.103
Límite inferior	0.635

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.635 – 1.103 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos. El lote 1 y 2 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.5 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.107	Cumple
Pared de fabricación	0.356	Cumple
Balanza 420 g	0.090	Cumple
Balanza 4600 g	0.025	Cumple
Mezclador M-4	0.368	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.231	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	2.685	Cumple
Tapa T-3	2.154	Cumple
Tapa T-5	3.034	Cumple
Filtro prensa	0.387	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de fabricación y el equipo con más concentración de Betametasona es la tapa T-5.

Tabla No.6 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3

n	10
Media	0.944
Desviación estándar	1.185
Valor p	0.038
Grados de libertad	9
Intervalo de confianza	0.679
Límite superior	1.623
Límite inferior	0.265

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.265 – 1.623 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.7 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.001	Cumple
Pared de fabricación	0.133	Cumple
Balanza 420 g	0.008	Cumple
Balanza 4600 g	0.192	Cumple
Mezclador M-3	0.000	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.082	Cumple
Taque T-5 (500 L)	0.001	Cumple
Tapa T-3	0.005	Cumple
Tapa T-5	0.003	Cumple
Filtro prensa	0.004	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de fabricación y el equipo con más concentración de Betametasona es la balanza de 4600 g de capacidad.

Tabla No.8 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4

n	10
Media	0.043
Desviación estándar	0.069
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	9
Intervalo de confianza	0.040
Límite superior	0.082
Límite inferior	0.003

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.003 – 0.082 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.9 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5 y No.6

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.031	Cumple
Pared de fabricación	0.003	Cumple
Balanza 420 g	0.014	Cumple
Balanza 4600 g	0.024	Cumple
Mezclador M-3	0.007	Cumple
Mezclador M-4	0.035	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.006	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	0.006	Cumple
Tapa T-3	0.001	Cumple
Tapa T-5	Indetectable	Cumple
Filtro prensa	0.005	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología y el equipo con más concentración de Betametasona es el mezclador M-4. El lote 5 y 6 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.10 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5 y No.6

n	11
Media	0.012
Desviación estándar	0.012
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	10
Intervalo de confianza	0.007
Límite superior	0.019
Límite inferior	0.005

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.007 – 0.019 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos. El lote 5 y 6 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.11 Concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7 y No.8

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.960	Cumple
Pared de fabricación	0.440	Cumple
Balanza 420 g	0.600	Cumple
Balanza 4600 g	0.240	Cumple
Mezclador M-3	1.390	Cumple
Mezclador M-4	0.384	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.087	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	0.095	Cumple
Tapa T-3	0.013	Cumple
Tapa T-5	0.001	Cumple
Filtro prensa	0.038	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología y el equipo con más concentración de Betametasona es el mezclador M-3. El lote 7 y 8 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.12 Análisis de datos de la concentración de Betametasona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7 y No.8

n	11
Media	0.386
Desviación estándar	0.446
Valor p	0.0001
Grados de libertad	10
Intervalo de confianza	0.244
Límite superior	0.630
Límite inferior	0.142

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.244 – 0.630 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos. El lote 7 y 8 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.13 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.567	Cumple
Pared de fabricación	0.06	Cumple
Balanza 420 g	0.499	Cumple
Balanza 4600 g	0.471	Cumple
Mezclador M-4	0.726	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.002	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	0.001	Cumple
Tapa T-3	0.069	Cumple
Tapa T-5	0.011	Cumple
Filtro prensa	0.022	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología y el equipo con más concentración de Prednisolona es el mezclador M-4. El lote 1 y 2 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.14 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.1 y No.2

n	10
Media	0.243
Desviación estándar	0.286
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	9
Intervalo de confianza	0.164
Límite superior	0.407
Límite inferior	0.079

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.407 – 0.079 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos. El lote 1 y 2 presentan las mismas concentraciones de trazas esteroideas debido a una fabricación consecutiva.

Tabla No.15 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	Indetectable	Cumple
Pared de fabricación	0.005	Cumple
Balanza 420 g	0.015	Cumple
Balanza 4600 g	0.002	Cumple
Mezclador M-4	0.021	Cumple
Tanque T-1 (250 L)	0.145	Cumple
Tapa T-1	Indetectable	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de fabricación y el equipo con más concentración de Prednisolona es el tanque T-1.

Tabla No.16 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.3

n	7
Media	0.027
Desviación estándar	0.053
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	6
Intervalo de confianza	0.036
Límite superior	0.063
Límite inferior	-0.009

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre indetectable – 0.063 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.17 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.001	Cumple
Pared de fabricación	0.001	Cumple
Balanza 420 g	0.041	Cumple
Balanza 4600 g	0.001	Cumple
Mezclador M-4	0.069	Cumple
Tanque T-1 (250 L)	0.001	Cumple
Tapa T-1	0.004	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que ambas áreas tienen la misma exposición al componente activo y el equipo con más concentración de Prednisolona es el mezclador M-4.

Tabla No.18 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.4

n	7
Media	0.017
Desviación estándar	0.027
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	6
Intervalo de confianza	0.019
Límite superior	0.036
Límite inferior	-0.002

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre indetectable – 0.036 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.19 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.032	Cumple
Pared de fabricación	0.04	Cumple
Balanza 420 g	0.028	Cumple
Balanza 4600 g	0.104	Cumple
Mezclador M-4	0.031	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.025	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	0.016	Cumple
Tapa T-3	0.031	Cumple
Tapa T-5	0.031	Cumple
Filtro prensa	0.082	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de fabricación y el equipo con más concentración de Prednisolona es la balanza de 4600 g de capacidad.

Tabla No.20 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.5

n	10
Media	0.042
Desviación estándar	0.028
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	9
Intervalo de confianza	0.016
Límite superior	0.058
Límite inferior	0.026

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.026 – 0.058 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.21 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.6

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.014	Cumple
Pared de fabricación	0.005	Cumple
Balanza 420 g	0.003	Cumple
Balanza 4600 g	0.003	Cumple
Mezclador M-4	0.005	Cumple
Tanque T-3 (500 L)	0.004	Cumple
Tanque T-5 (500 L)	0.008	Cumple
Tapa T-3	0.003	Cumple
Tapa T-5	0.003	Cumple
Filtro prensa	0.018	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología y el equipo con más concentración de Prednisolona es el filtro prensa.

Tabla No.22 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.6

n	10
Media	0.007
Desviación estándar	0.005
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	9
Intervalo de confianza	0.003
Límite superior	0.010
Límite inferior	0.004

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.004 – 0.010 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.23 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.018	Cumple
Pared de fabricación	Indetectable	Cumple
Balanza 420 g	0.265	Cumple
Balanza 4600 g	Indetectable	Cumple
Mezclador M-4	0.001	Cumple
Tanque T-1 (250 L)	0.004	Cumple
Tapa T-1	Indetectable	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología y el equipo con más concentración de Prednisolona es la balanza de 420 g de capacidad.

Tabla No.24 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.7

n	7
Media	0.041
Desviación estándar	0.099
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	6
Intervalo de confianza	0.068
Límite superior	0.109
Límite inferior	-0.027

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre indetectable – 0.109 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.25 Concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.8

Punto de muestreo	Resultado (ppm)	Dictamen
Pared de metrología	0.057	Cumple
Pared de fabricación	0.002	Cumple
Balanza 420 g	0.091	Cumple
Balanza 4600 g	0.006	Cumple
Mezclador M-4	0.017	Cumple
Tanque T-1 (250 L)	0.500	Cumple
Tapa T-1	0.367	Cumple

Todas las áreas y equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología y el equipo con más concentración de Prednisolona es el tanque T-1.

Tabla No.26 Análisis de datos de la concentración de Prednisolona posterior a la limpieza de las áreas y equipos del lote No.8

n	7
Media	0.149
Desviación estándar	0.201
Valor p	<0.0001
Grados de libertad	6
Intervalo de confianza	0.138
Límite superior	0.286
Límite inferior	0.011

Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente. El intervalo de confianza indica que el 95% de los datos están entre 0.011 – 0.286 ppm, mismos que se encuentran dentro del límite de aceptación de residuos.

Tabla No.27 Resumen del análisis de datos de la concentración de Betametasona en ocho lotes de fabricación

Lote	n	Media	Desviación estándar	Valor p	Grados de libertad	Intervalo de confianza	Límite superior	Límite inferior
1	11	0.869	0.428	<0.0001	10	0.234	1.103	0.635
2	11	0.869	0.428	<0.0001	10	0.234	1.103	0.635
3	10	0.944	1.185	0.038	9	0.679	1.623	0.265
4	10	0.043	0.069	<0.0001	9	0.04	0.082	0.003
5	11	0.012	0.012	<0.0001	10	0.007	0.019	0.005
6	11	0.012	0.012	<0.0001	10	0.007	0.019	0.005
7	11	0.386	0.446	0.0001	10	0.244	0.63	0.142
8	11	0.386	0.446	0.0001	10	0.244	0.63	0.142

Todos los lotes de Betametasona cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm. Los lotes con mayor concentración corresponden al No.1 y No.2, con una media de 0.869 ppm. Todas las concentraciones oscilan entre el límite de 0.005 – 0.635 ppm, las cuales se encuentran muy por debajo del criterio de aceptación.

Tabla No.28 Resumen del análisis de datos de la concentración de Prednisolona en ocho lotes de fabricación

Lote	n	Media	Desviación estándar	Valor p	Grados de libertad	Intervalo de confianza	Límite superior	Límite inferior
1	10	0.243	0.286	<0.0001	9	0.164	0.407	0.079
2	10	0.243	0.286	<0.0001	9	0.164	0.407	0.079
3	7	0.027	0.053	<0.0001	6	0.036	0.063	-0.009
4	7	0.017	0.027	<0.0001	6	0.019	0.036	-0.002
5	10	0.042	0.028	<0.0001	9	0.016	0.058	0.026
6	10	0.007	0.005	<0.0001	9	0.003	0.010	0.004
7	7	0.041	0.099	0.0001	6	0.068	0.109	-0.027
8	7	0.149	0.201	0.0001	6	0.138	0.286	0.011

Todos los lotes de Prednisolona cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm. Los lotes con mayor concentración corresponden al No.1 y No.2, con una media de 0.286 ppm. Todas las concentraciones oscilan entre el límite de indetectable – 0.079 ppm, las cuales se encuentran muy por debajo del criterio de aceptación, incluso más que los lotes de Betametasona.

Tabla No.29 Análisis de datos de la concentración de esteroides (Betametasona y Prednisolona) en las áreas de metrología y fabricación de líquidos

Área	Pared de metrología	Pared de fabricación
n	16	16
Media	0.353	0.248
Desviación estándar	0.458	0.406
Valor p	<0.0001	<0.0001
Grados de libertad	15	15
Intervalo de confianza	0.201	0.178
Límite superior	0.554	0.426
Límite inferior	0.152	0.07

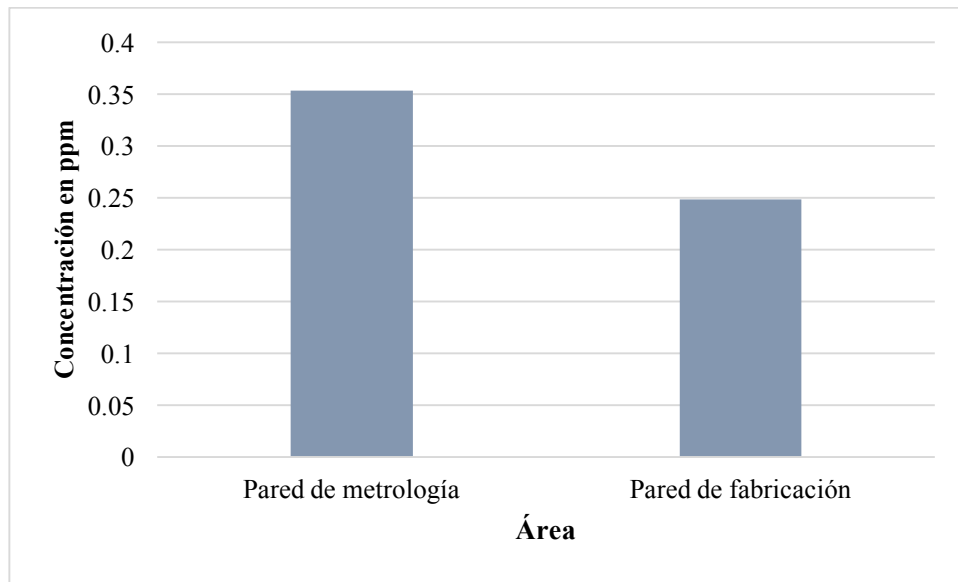
Ambas áreas cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el área más expuesta al componente activo es el área de metrología con una media de 0.353. Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente en ambas áreas.

Tabla No.30 Análisis de datos de la concentración de esteroides (Betametasona y Prednisolona) en los equipos utilizados para la fabricación de líquidos

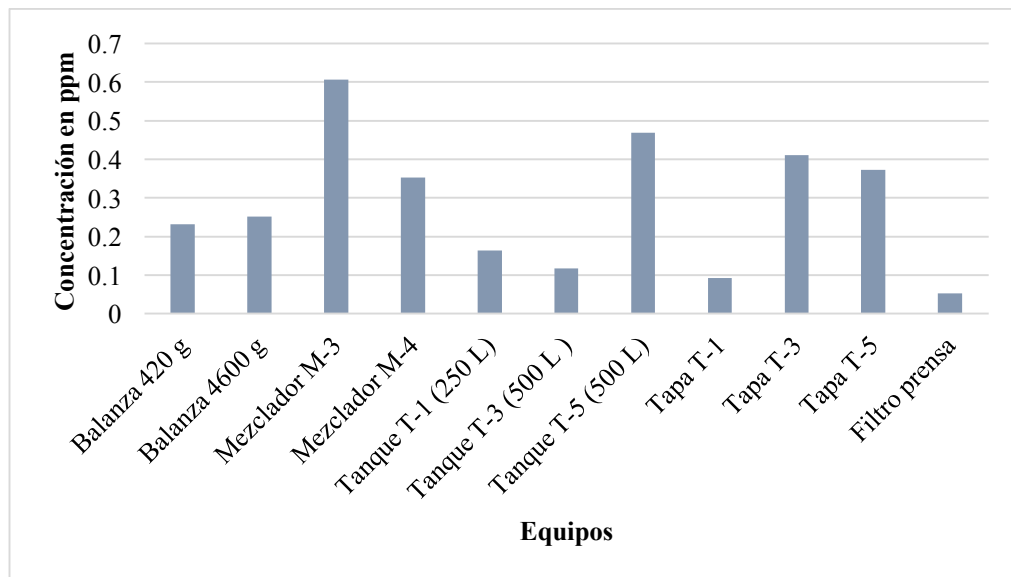
Equipo	n	Media	Desviación estándar	Valor p	Grados de libertad	Intervalo de confianza	Límite superior	Límite inferior
Balanza 420 g	16	0.232	0.244	<0.0001	15	0.107	0.339	0.125
Balanza 4600 g	16	0.251	0.369	<0.0001	15	0.162	0.413	0.089
Mezclador M-3	7	0.607	0.635	0.001	6	0.466	1.073	0.141
Mezclador M-4	15	0.353	0.441	<0.0001	14	0.201	0.554	0.152
Tanque T-1 (250 L)	4	0.163	0.235	0.0002	3	0.277	0.440	-0.114
Tanque T-3 (500 L)	12	0.117	0.177	<0.0001	11	0.092	0.209	0.025
Tanque T-5 (500 L)	12	0.468	0.857	0.008	11	0.444	0.912	0.024
Tapa T-1	4	0.093	0.183	0.0001	3	0.215	0.308	-0.122
Tapa T-3	12	0.410	0.708	0.002	11	0.367	0.777	0.043
Tapa T-5	12	0.372	0.876	0.009	11	0.454	0.826	-0.082
Filtro prensa	12	0.052	0.108	<0.0001	11	0.056	0.108	-0.004

Todos los equipos cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm por lo que se permitió proceder a la liberación de los mismos para la fabricación del siguiente producto. Se evidencia que el equipo más expuesto al componente activo es el mezclador M-3 con una media de 0.607. Debido a que valor $p < 0.05$, se rechaza la hipótesis nula, por lo que la limpieza es eficiente en todos los equipos.

Gráfica No.1 Concentración media de esteroides en partes por millón de las áreas muestreadas



Gráfica No.2 Concentración media de esteroides en partes por millón de los equipos muestreados



7. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

El procedimiento de limpieza en una industria farmacéutica se efectúa con el fin de eliminar la contaminación de impurezas químicas, biológicas o cuerpos extraños, esta acción es indispensable para evitar la contaminación cruzada y para cumplir con las Buenas Prácticas de Manufactura^{1, 2}. Las Buenas Prácticas de Manufactura definen la contaminación cruzada como la contaminación de materia prima, producto intermedio o producto terminado con cualquier otro material de partida o producto durante la fabricación y para prevenirla se sugiere disponer con instalaciones independientes y aisladas³. Estas variables se tienen controladas gracias a la infraestructura de la industria farmacéutica, sin embargo es imprescindible disponer con un plan de limpieza que asegure la eliminación de trazas del producto terminado para poder continuar con la fabricación de otros productos. Este plan de limpieza fue implementado por el laboratorio farmacéutico en donde se llevó a cabo el análisis y lo que busca este trabajo es evaluar ese proceso.

El objetivo principal de esta investigación fue verificar el método de limpieza empleado en una industria farmacéutica en el área y en los equipos que se utilizan para la fabricación soluciones orales de Betametasona y Prednisolona como componentes activos de interés. Esto con el propósito de generar información confiable que permita llevar a cabo la futura validación del método de limpieza de las áreas y equipos en el laboratorio farmacéutico.

La industria farmacéutica en donde se trabajó la evaluación retrospectiva definió la Betametasona y la Prednisolona como componentes activos de interés, ya que a pesar de contar con otras materias primas, estas pertenecen al grupo de los corticosteroides. Estos compuestos son caracterizados por presentar efectos secundarios a bajas dosis, además poseen una toxicidad aguda. Por esta razón es importante asegurar la limpieza de los equipos y áreas antes de iniciar la fabricación de otro producto, para confirmar que no habrá contaminación cruzada con este tipo de componentes activos.

Para llevar a cabo el análisis de datos fue necesario definir el límite máximo aceptable de residuos; en este caso se utilizó la técnica de las 10 partes por millón, técnica con la que se trabaja desde el año 2018 en el laboratorio farmacéutico. Sin embargo, los resultados analizados comprenden desde el año 2019 hasta el año 2020, para mayor validez del trabajo de investigación. El límite máximo aceptable de residuos es útil para establecer la cantidad máxima de componente activo que puede existir en las áreas y equipos que se utilizan en la fabricación de soluciones orales. Para calcular la concentración de trazas que contienen las áreas y equipos se utilizan el método cuantitativo de cromatografía líquida de alta eficiencia. El análisis de trazas se realiza después de finalizar el procedimiento estándar de limpieza; primero, el inspector de calidad en procesos confirma la limpieza visualmente y se procede a la toma de muestras por medio del método directo de muestreo de hisopado para finalmente ser analizadas en el laboratorio fisicoquímico con el método analítico HPLC.

Por tratarse de una evaluación retrospectiva, se solicitó información al laboratorio farmacéutico en donde se efectuó la investigación. Esta información se refiere a las áreas en las que se evalúan residuos de trazas del componente activo, los puntos críticos de los equipos que se muestrean y el área superficial que debe ser muestreada para cada equipo, los datos se visualizan en la tabla No.2 “*Características y puntos de muestreo de equipos y áreas*”, ubicado en la sección 4.2.3. Esta información se obtuvo de los expedientes del historial de fabricación y análisis de trazas de los lotes correspondientes. Asimismo, se solicitó el procedimiento estándar de limpieza, el procedimiento del método de hisopado y el procedimiento cuantitativo del análisis de trazas de Betametasona y Prednisolona desarrollado por medio del método de cromatografía líquida de alta eficiencia. Esta información fue extraída de los Procedimientos Estándares Operativos desarrollados y aprobados por el departamento de garantía de calidad del laboratorio.

En el área de metrología se evaluaron las trazas de esteroides presentes en la pared del área y las balanzas que se utilizan para el proceso de pesado de los componentes del producto, siendo estas una balanza de 420 g de capacidad y una de 4600 g de capacidad. En el área de fabricación se evaluaron las trazas de esteroides presentes la pared del área y puntos críticos de mezclador, tanque, tapas del tanque y filtro prensa. El uso de algunos equipos dependen directamente del tamaño del lote a fabricar. En lotes pequeños que generalmente son de 250 L se utiliza únicamente un tanque de manufactura y no se utiliza filtro prensa debido a que este se utiliza para trasvasar la solución de un tanque a otro. De igual forma, los mezcladores funcionan tanto como mezclador y homogenizador, por lo que no siempre se utilizan dos mezcladores. En lotes grandes, de 500 L, en donde es necesario trasvasar la solución de un tanque a otro se utiliza filtro prensa y dos tanques de manufactura; generalmente se utilizan dos mezcladores, uno para cada tanque, sin embargo es posible que en algunas ocasiones se utilice el mismo.

Para la determinación de trazas de Betametasona y Prednisolona se evaluaron los resultados obtenidos por medio del análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia de las áreas y equipos mencionados anteriormente de ocho lotes distintos para cada principio activo. Se utilizaron ocho lotes debido a que este valor permite que los resultados sean estadísticamente significativos para desarrollar una validación retrospectiva. De igual forma, los ocho lotes fueron fabricados en el período de tiempo del año 2019 al año 2020. La fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona se lleva a cabo en campaña debido a que el principio activo se trata de esteroides, por lo que muchos lotes se fabrican consecutivamente para evitar contaminación cruzada; sin embargo, también se fabrican lotes pequeños cuando el mercado lo amerita para satisfacer la demanda de los consumidores.

El método de cromatografía líquida de alta eficiencia pertenece a la categoría I de principios activos según el RTCA 11.03.39:06, por lo que se verificó que la validación de este método haya sido mediante parámetros de linealidad, precisión, exactitud, intervalo y especificidad. El laboratorio farmacéutico contaba con el respaldo de la validación del método por lo que se tiene total certeza que los resultados reportados en este trabajo son reales y válidos.

El análisis de los datos recopilados fue desarrollado en la plataforma Microsoft Excel, en donde se llevó a cabo el análisis estadístico descriptivo y uno cuantitativo. El análisis descriptivo consistió en nombrar cada área y equipo muestreado por el laboratorio, reportando la concentración obtenida por el cromatógrafo de líquidos, junto con el dictamen de “cumple” o “no cumple” de cada lote. El análisis cuantitativo consistió en el planteamiento de una hipótesis nula y una hipótesis alternativa, ambas basadas en la hipótesis del trabajo de investigación *“Es posible determinar la eficacia del método de limpieza empleado en las áreas de metrología y producción de líquidos, y en los equipos que se utilizan en la fabricación de soluciones de Betametasona y Prednisolona mediante el análisis de trazas, por medio del método analítico cuantitativo de cromatografía líquida de alta eficiencia”*. La hipótesis nula plantea que las trazas esteroideas de las áreas y equipos son iguales a 10 ppm, indicando una limpieza que no es eficaz; mientras que la hipótesis alternativa plantea que las trazas esteroideas de las áreas y equipos son menores a 10 ppm, comprobando que la limpieza es eficaz. Debido a que se tiene una muestra pequeña ($n < 30$) y se conoce la desviación estándar de la muestra (s), se llevó a cabo una prueba t de student. La prueba t de student es simétrica y mide la probabilidad de que un dato no esté dentro de los intervalos de confianza. Para la obtención de este valor se utilizó un 95% de confianza y los grados de libertad dependieron directamente de cada lote, área y equipo analizado. Con la t de student calculada en todos lotes, áreas y equipos se rechazaba la hipótesis nula, sin embargo, este resultado se comprobó con una prueba de valor p , en donde se establece que si el valor p es menor a α (0.05), se confirma el rechazo de la hipótesis nula. De igual forma, se obtuvo el intervalo de confianza para calcular los límites superiores e inferiores de los datos analizados para establecer el rango en el que se encuentra el 95% de los mismos.

En la sección de resultados, desde la Tabla No.3 hasta la Tabla No.12 se presentan los resultados de las trazas de Betametasona. En los mismos se observan que algunos lotes contienen los mismos resultados de trazas, como lo es el lote No.1 y No.2; esto sucede debido a que se fabricaron dos lotes consecutivos y se realizó un solo análisis de trazas. En el análisis estadístico descriptivo se obtuvo que todas las áreas y puntos críticos muestreados cumplen con el límite de aceptación establecido. Asimismo, los lotes de producción de soluciones Betametasona poseen una media que se encuentra dentro del límite de aceptación de 10 ppm. Además, todos los equipos están por debajo de este valor, siendo 3.034 ppm la concentración mayor de trazas en todos los equipos y áreas, por lo que todos los lotes cumplen y son autorizados para la emisión de etiquetas de liberación de área y equipo que indican que se puede continuar con la fabricación de otros productos. En cuanto al análisis estadístico cuantitativo se obtuvo un valor p menor a alfa en todos los lotes, por lo que es posible asegurar que la limpieza es eficaz, estando todos los valores por debajo del límite de aceptación de residuos de 10 ppm. Asimismo, los límites de confianza cumplen con las especificaciones de aceptación de trazas esteroideas. Dentro de los resultados individuales de áreas y equipos se cuentan con trazas que fueron indetectables por el equipo de cromatografía líquida, esto no quiere decir que no existan residuos de Betametasona, sin embargo la concentración es tan baja que no supone ningún problema para la fabricación de los siguientes productos a fabricar.

En la sección de resultados, de la Tabla No.13 a la Tabla No.26 se detallan los resultados de las trazas de Prednisolona. En este caso, se cuenta únicamente con dos lotes que fueron fabricados consecutivamente. Los resultados del análisis estadístico descriptivo muestran que todas las áreas y puntos críticos muestreados cumplen con el límite de aceptación de residuos establecido, ya que la media de todos los lotes está por debajo de 10 ppm. Además, ningún equipo sobrepasa este valor, siendo 0.726 ppm la concentración mayor de trazas en todos los equipos y áreas, aprobando la limpieza de los mismos y autorizando las etiquetas de liberación para poder continuar con la fabricación de otros productos. El análisis estadístico cuantitativo confirma por medio de una prueba de valor p que la limpieza efectuada en las áreas y equipos es eficaz, ya que el valor p de todos los lotes, áreas y equipos siempre es menor que alfa, rechazando la hipótesis nula y afirmando que las trazas de Prednisolona analizadas son menores a 10 ppm. Se definió el intervalo de confianza para cada lote que permitió delimitar un rango en los que se encuentran el 95% de los datos, siendo todos los rangos menores a la especificación. Al igual que en los lotes de Betametasona, hubo trazas que fueron indetectables por el cromatógrafo de líquidos.

En la Tabla No.27 se muestra un resumen del análisis de todos los lotes de Betametasona para tener una mejor visualización de los datos. Como se puede observar, todos los lotes cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm. Esta tabla de resultados presenta el número de muestras de cada lote, incluyendo áreas y equipos, asimismo se presentan valores descriptivos como lo es la media y la desviación estándar. También se presentan los resultados de la prueba de valor p para definir si se rechaza o no la hipótesis nula, y los límites superiores e inferiores obtenidos mediante el intervalo de confianza. Con esta información se puede observar que los lotes con mayor concentración corresponden al No.1 y No.2, con una media de 0.869 ppm, razón por la cual se tiene un indicio de que la limpieza es eficaz. Esta suposición se corroboró con el valor p, el cual indica que si este es menor a alfa (0.05), se rechaza la hipótesis nula y se confirma la eficacia de la limpieza. Mientras más pequeño sea este valor, mayor significancia tiene el resultado estadísticamente. En la tabla de resultados se observa que todos los valores son menores que 0.05, incluso la mayoría de ellos está por debajo de 0.0001, por lo que se tiene absoluta certeza y confianza en los resultados obtenidos. Por medio del intervalo de confianza se calculó un límite superior y uno inferior para estimar en dónde se encuentra el 95% de las concentraciones. Con estos resultados se obtuvo que las concentraciones oscilan entre el límite de 0.005 – 0.635 ppm, tomando el menor límite y el mayor límite calculados, sin hacer diferencia de lotes, estos se encuentran muy por debajo del criterio de aceptación por lo que sería posible reducir el valor de 10 ppm.

En la Tabla No.28 se visualiza el resumen del análisis de todos los lotes de Prednisolona en donde se reportan los mismos resultados mencionados en el párrafo anterior. En general, todos los resultados cumplen con la especificación de aceptación de residuos de 10 ppm en base a la media de cada lote. Los lotes con mayor concentración corresponden al No.1 y No.2, con una media de 0.286 ppm, que se encuentra muy por debajo del criterio de aceptación. En cuanto al resultado del valor p, todos los resultados fueron

satisfactorios, teniendo un valor máximo de 0.0001, por lo que se rechaza la hipótesis nula para todos los lotes y concluyendo que la limpieza efectuada en las áreas y equipos es eficaz. Se obtuvo un rango en donde se encuentra el 95% de los resultados mediante el intervalo de confianza. Utilizando todos los límites inferiores y superiores, sin distinción de lotes, se obtuvo que todas las concentraciones oscilan entre el límite de indetectable – 0.079 ppm. En las tablas de resultados se observan valores negativos en los límites inferiores; debido a que no se puede tener una concentración negativa, estos valores se interpretan como indetectables.

Realizando una comparación de la Tabla No.27 y No.28, se observa que las concentraciones en las áreas y equipos de Prednisolona son mucho menores que las trazas de Betametasona. Esto puede deberse a las características físicas de las materias primas, siendo la Betametasona un polvo más difícil de manipular y de limpiar, mientras que en la Prednisolona es un polvo que fluye más y no da tanto problema al momento de efectuar la limpieza de la misma. A pesar de las diferencias físicas de los principios activos, con los resultados obtenidos en este trabajo es posible asegurar que el método de limpieza es eficaz para eliminar trazas esteroideas y evitar contaminación cruzada, cumpliendo en su totalidad las Buenas Prácticas de Manufactura.

En la Tabla No.29 se definen los resultados obtenidos para las concentraciones de trazas tanto de Betametasona como de Prednisolona para las áreas de metrología y fabricación. En ambas áreas el valor p fue menor que alfa, por lo que el proceso de limpieza de las áreas es eficaz. La media de la pared de metrología y de la pared de fabricación se encuentran por debajo de las 10 ppm, sin embargo sí existen residuos de esteroides en las áreas a pesar de que no se tiene contacto directo con el principio activo, por este motivo se debe ser meticulosos en la limpieza de las mismas. En la Gráfica No.1 se observa que la concentración esteroidea es mayor en la pared de metrología que en la pared del área de fabricación, esto quiere decir que se debe tener sumo cuidado al momento de pesar los componentes del siguiente producto a fabricar, ya que a pesar de que no se está manipulando tanto el principio activo, este sí se distribuye en el ambiente y puede ser un foco de contaminación. De igual manera, se debe tener precaución en el área de fabricación y esperar a las etiquetas de liberación de área para evitar problemas de contaminación cruzada e incumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura.

La Tabla No.30 presenta los resultados obtenidos de las concentraciones de trazas de Betametasona y Prednisolona en los equipos que se utilizan en la fabricación de soluciones orales esteroideas. Todos los resultados demuestran que valor p es menor a alfa, por lo que el procedimiento de limpieza efectuado en los equipos de fabricación es eficaz, teniendo concentraciones menores a 10 ppm. En la Gráfica No.2 se observa que el mezclador M-3 es el equipo que contiene más concentración esteroidea, siendo esta de 0.635 ppm, esto puede ser debido a la alta exposición que tiene este equipo en el proceso de manufactura, ya que se utiliza desde el inicio hasta el final del proceso. Seguidamente se encuentran los tanques de fabricación, específicamente el tanque T-5 de 500 L, y las tapas de los tanques. Esto se debe a que los tanques tienen

contacto directo con el principio activo y las soluciones se dejan reposar en los mismos hasta que se prosigue con el llenado de frascos. Las balanzas oscilan entre concentraciones de 0.080 – 0.230 ppm, a pesar de que no existe contacto directo entre balanzas y principio activo se debe realizar una limpieza profunda de las mismas para asegurar que no exista concentraciones que puedan perjudicar la fabricación de otros productos. Finalmente, se encuentra el filtro prensa con una concentración media de 0.052 ppm; a pesar de que este equipo se utiliza únicamente con la función de trasvasar las soluciones de un tanque a otro es importante tener un procedimiento de limpieza estándar para cuidar que no queden residuos esteroideos dentro de las mangueras del equipo. Otra solución podría ser la compra de mangueras que se utilicen únicamente para la fabricación de productos esteroideos, de esta forma no se tendrá que desarrollar un análisis de trazas para este equipo.

Si se desea continuar con la validación del método de limpieza en áreas y equipos utilizados en la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona será necesario seguir los procedimientos de limpieza y toma de muestras de los mismos puntos de muestreo utilizados en este documento para asegurar que los resultados sean reales y que el proceso sea válido. En evidencia de que todos los resultados obtenidos son satisfactorios, es factible continuar con la evaluación del método cualitativo de análisis de carbono total para evaluar las trazas de los agentes de limpieza. Con los resultados del método cuantitativo y cualitativo será posible efectuar exitosamente la validación.

8. CONCLUSIONES

- 8.1 El método de limpieza empleado en las áreas y equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona es el adecuado ya que tanto lotes completos como áreas y equipos individuales evidenciaron que tienen una concentración menor a 10 ppm al ser muestreados por el método de hisopado y analizados por cromatografía líquida de alta eficiencia.
- 8.2 Se obtuvieron resultados satisfactorios y estadísticamente significativos en el análisis de cuantificación de trazas de Betametasona y Prednisolona; estos indican que todas las áreas y equipos muestreados se encuentran por debajo del límite de aceptación de residuos (10 ppm) con un 95% de confianza.
- 8.3 Las concentraciones en las áreas y equipos de Prednisolona son mucho menores que las concentraciones residuales de Betametasona, esto puede ser debido a las características físicas de las materias primas.
- 8.4 Los resultados presentados en este trabajo evidencian que el método de limpieza es eficaz para eliminar trazas esteroideas y evitar contaminación cruzada, cumpliendo en su totalidad las Buenas Prácticas de Manufactura.
- 8.5 Aun cuando el análisis del trabajo se limitó a ocho lotes para cada principio activo, la muestra analizada estadísticamente genera información válida y confiable. Esto debido a que en el documento ICH Q7 se establece que se deben evaluar de diez a treinta lotes o incluso una menor cantidad de lotes, siempre y cuando los lotes seleccionados sean representativos de todos los lotes fabricados durante un período de revisión y sean suficientes para demostrar la consistencia de un proceso.
- 8.6 Generalmente, la validación de limpieza aplica únicamente a superficies que están en contacto con el principio activo; sin embargo en esta evaluación se tomaron en cuenta algunas áreas que no están expuestas al producto como las paredes del área de metrología y de fabricación de líquidos, evidenciando la presencia de concentraciones esteroideas con un valor medio de 0.353 ppm para el área de metrología y 0.248 ppm para el área de fabricación.
- 8.7 Debido a que los resultados de esta evaluación retrospectiva son los deseados, se deberá continuar con el análisis del método analítico cualitativo de conductividad para proceder con la validación del método de limpieza, en virtud de que todos los resultados obtenidos por el método analítico cuantitativo fueron satisfactorios.

9. RECOMENDACIONES

- 9.1** Según los resultados obtenidos en este estudio, todos las concentraciones de trazas de Betametasona y Prednisolona se encuentran por debajo del límite de aceptación de residuos de 10 ppm, por lo que se sugiere reducir este criterio a 5 ppm para evidenciar una limpieza más eficaz.
- 9.2** Modificación del período de tiempo de validez de un procedimiento de limpieza en las áreas y equipos para ahorrar tiempo y recursos.
- 9.3** Desarrollo de un proceso de validación de limpieza concurrente, esta puede ser una mejor opción para validar los métodos de limpieza que involucran productos que se fabrican en campaña.
- 9.4** Desarrollo de otros estudios similares para la evaluación del método analítico cualitativo de conductividad para contar con todos los datos necesarios para validar el procedimiento de limpieza empleado en las áreas y equipos que se utilizan para la fabricación de soluciones orales de Betametasona y Prednisolona.
- 9.5** Inauguración de un departamento de validaciones que tenga como objetivo velar por el cumplimiento del procedimiento estándar de limpieza y que reporte cualquier cambio en el proceso que pueda indicar una revalidación.

10. BIBLIOGRAFÍA


1. Madrid, M. C. (2018). *Implementación, Validación y Seguimiento de un Procedimiento de Limpieza y Sanitización en la Industria de Productos de Consumo para el Hogar*. Universidad Autónoma del Estado de México, Facultad de Química. México: Tesina.
2. Food and Drug Administration. (26 de 08 de 2014). *Validation of Cleaning Processes (7/93)*. Recuperado el 11 de 07 de 2020, de U.S. Food and Drug Administration: <https://www.fda.gov/validation-cleaning-processes-793>
3. World Health Organization. (2020). *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparation (54th report ed.)*. Italy: WHO Technical Report Series.
4. Mayo Clinic. (12 de 07 de 2020). *Prednisona y otros Corticoides*. Obtenido de Mayo Clinic: <https://www.mayoclinic.org/es-es/steroids/art-20045692>
5. Rezquellah, W. (2015). *Validación de los Procesos de Limpieza en la Industria Farmacéutica, Mediante la Aplicación del Análisis de Riesgo, Seguridad Toxicológica y UPLC*. Universidad de Barcelona, Facultad de Farmacia . Barcelona: Tesis Doctoral.
6. Remington, J., Gennaro, A. (2003). *Remington Farmacia (20va edición ed.)*. Madrid, España: Editorial Médica Panamericana.
7. GUINAMA. (08 de 04 de 2014). Ficha Técnica Prednisolona. *GUINAMA*, 1-2.
8. COMIECO - LXVII. (2014). Buenas Prácticas de Manufactura para la Industria Farmacéutica, Productos Farmacéuticos y Medicamentos de Uso Humano. *RTCA 11.03.42:07*, 1-98.
9. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (01 de 10 de 2015). Anexo 15: Cualificación y Validación. *Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario*, 1-19.
10. Villa, F. A. (2014). *Validación del Método de Limpieza y Trazas de Corticoides después de la Elaboración del Producto Cortipan (Betametasona sodio fosfato + Betametasona dipropionato) en el Reactor Olsa PCBF50 en Ginsberg Ecuador S.A.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Ecuador: Escuela de Bioquímica y Farmacia.
11. Salguero, E. N. (2016). *Validación del Método Analítico por Cromatografía Líquida de Alta Eficiencia para la Cuantificación de Ceftriaxona Solución Inyectable (1g) en la Industria Betapharma S.A.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Ecuador: Escuela de Bioquímica y Farmacia.
12. García, M. M. (2017). *Introducción a la Técnica Analítica HPLC y UPLC*. Universidad Autónoma del Estado de México. México: Facultad de Química, Química Farmacéutica y Biología.
13. Dávila, J. L. (2012). *Validación del Procedimiento de Limpieza de los Equipos de Manufactura de Betametasona 0.05% Crema*. Universidad Nacional de Trujillo, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Perú: Escuela Académica Profesional de Farmacia y Bioquímica.
14. Franquiz, S. (2015). *Validación del Proceso de Limpieza de un Área de Producción de Esteroides Inyectables*. Universidad Central de Venezuela, Facultad de Farmacia. Caracas: Postgrado en Aseguramiento de la Calidad.

15. González, L. A. (2015). *Validación de un Procedimiento de Limpieza en el Área de Producción de Semisólidos y del Equipo de Emulsificación que Trabaja con Betametasona en una Industria Farmacéutica*. Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería Química. Guatemala: Trabajo de Graduación.
16. Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. (2014). *Guía de Normas de Correcta Fabricación de Uso Humano y Veterinario*. Madrid: Ministerio de Sanidad, Servicios Sociales e Igualdad.
17. Arizaga, D. J. (2015). *Validación de Limpieza de Equipos Utilizados en la Producción de Ácido Ascórbico y Ácido Fólico - Forma Farmacéutica Polvo para la Suspensión Oral en Ginsberg Ecuador S.A. Mediante Análisis de Trazas*. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Ecuador: Escuela de Bioquímica y Farmacia.
18. Organización Panamericana de la Salud. (01 de 01 de 2015). *Establecimiento: Mantenimiento, Limpieza y Desinfección*. Recuperado el 14 de 07 de 2020, de Buenas Prácticas de Manufactura: https://www.paho.org/hq/index.php?option=com_content&view=article&id=10822:2015-establecimiento-mantenimiento-limpieza-desinfeccion&Itemid=42210&lang=es
19. López, F., Sosa, A. B., Martínez, M., Ochoa, J. M., & Córdova, R. (2015). Modelo Educativo para el Estudio Toxicológico de Productos de Limpieza de Uso Comercial. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 1-8.
20. Rodríguez, R. (2012). *Vademécum Académico de Medicamentos* (6ta ed.). México D.F., México: McGraw Hill Interamericana.
21. STERIS. (2011). Detergentes Farmacéuticos. *Productos Consumibles Formulados para Procesos de Limpieza*, 1-2.
22. Almonacid, A. S. (2016). *Informe de Internado Realizado en Industria Farmacéutica como Parte de los Requisitos para Optar al Título de Químico Farmacéutico*. Chile: Universidad Austral de Chile.
23. Díaz, M. M. (2018). *Validación e Implementación del Método Analítico de Monitoreo de Superficies por Hisopado en la Industria Farmacéutica*. Universidad Norbert Wiener, Facultad de Farmacia y Bioquímica. Lima: Escuela Académico Profesional de Farmacia y Bioquímica.
24. Chacón, A. P. (2019). *Validación del Proceso de Fabricación de un Medicamento Mediante Evaluación de Puntos Críticos en una Industria Farmacéutica*. Universidad Central del Ecuador. Quito: Facultad de Ingeniería Química.
25. López, Adaris María; Pierre, Rosalba Alejandra;. (2005). Establecimiento del Límite Aceptable para el Residuo de Limpieza en los Equipos de Producción de la industria Farmacéutica. *Revista Cubana de Farmacia*, 1-13.
26. Ovais, M., & Lian, L. (2008). Setting Cleaning Validation Acceptance Limits for Topical Formulations. *Pharmaceutical Technology*, 1-6.
27. Walsh, A. (2011). Cleaning Validation for the 21 Century: Acceptance Limits for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs). *Pharmaceutical Engineering*, 1-11.


28. Torres, Y. G. (2018). *Validación del Proceso de Fabricación de una Forma Farmacéutica Líquida Antiséptica Tópica en Laboratorios Remo S.A.* Universidad de Américas. Bogotá: Facultad de Ingeniería Química.
29. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. (2017). *Buenas Prácticas Farmacéuticas* (2da ed.). La Habana, Cuba.
30. Shagñay, M. J. (2019). *Validación de Limpieza del Reactor Acindec Capacidad 15000 Litros y Cabina Estéril, en Ginsberg S.A. Quito mediante el Método TOC.* Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, Facultad de Ciencias. Ecuador: Escuela de Bioquímica y Farmacia.
31. Vásquez, M., Otero, M., & Miranda, J. (2016). *Validación de un Método Analítico para la Determinación de Trazas de Detergente en el Proceso de Limpieza de un Recino de Fraccionamiento de Ioduro de Sodio Solución Oral.* Instituto Peruano de Energía Nuclear. Lima: Planta de Producción de Radioisótopos.
32. Castillo, B., & Gonzalez, R. (1996). Protocolo de Validación de Métodos Analíticos para la Cuantificación de Fármacos. *Revista Cubana de Farmacia*, 30(1), 0-0.
33. COMIECO - LXVII. (2006). Validación de Métodos Analíticos para la Evaluación de la Calidad de los Medicamentos. *RTCA 11.03.39:06*, 1-8.
34. Skoog, D., West, D., Holler, J., & Crouch, S. (2015). *Fundamentos de Química Analítica* (9na ed.). México D.F., México: Cengage Learning.
35. Hidalgo, M., & Sánchez, B. (2016). *Formas Farmacéuticas Líquidas Orales: Excipientes.* México: AMV.
36. Murillo, Á., & Avilés, M. (2005). *Estudio Analítico de un Principio Activo Farmacéutico en un Proceso Industrial.* Barcelona: Escuela Universitaria de Ingeniería Técnica Industrial.
37. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. (2018). *Guía de Validación de Métodos Analíticos.* Guatemala: MSPAS y PAHO.
38. Cáceres, D., Zapata, D., Granada, S., & Cano, L. (07 de 09 de 2016). Estandarización y Validación en Colombia de una Metodología Basada en HPLC para la Determinación de la Concentración Sérica de Posoconazol. *Revista Iberoamericana de Micología*, 33(4), 230-236.
39. Organismo Salvadoreño de Acreditación. (2017). *Validación de Métodos Analíticos Físicoquímicos.* San Salvador: Sistema de Gestión de Calidad.
40. García, A., & Yusá, J. (2016). *HPLC Instrumental.* Valencia, España: Universidad Politécnica de Valencia.
41. O'neil, M. (2001). *Enciclopedia de Productos Químicos, Fármacos y Productos Biológicos.* Merck and Co. New Jersey: RSC Publishing.
42. The United States Pharmaceutical Convention. (2019). *Farmacopea de los Estados Unidos de América. USP 42 NF 2019* (37va ed.). Estados Unidos: Consejo Experto y Comités Expertos.
43. Laboratorios Senosiain, S.A. (2019). *Jarsix (Loratadina Betametasona) Tabletas y Solución.* Guanajuato: Senosiain.

44. Centro de Información de Medicamentos. (2016). *Betametasona Shonphar 0,5mg/mL Gotas Orales en Solución EFG*. Madrid: Asociación Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.
45. Cayman Chemical. (2020). *Safety Data Sheet: Betamethasone*. Michigan, United States: Cayman Chemical Company, Ann Arbor.
46. Calvo, D., & Delgado, I. (2011). *Formulario Nacional de Medicamentos*. Dirección Nacional de Medicamentos. La Habana: Departametro de Farmacoepidemiología.
47. Centro de Información de Medicamentos. (2019). *Paidocort 3mg/mL Solución Oral*. Madrid: Asociación Española de Medicamentos y Productos Sanitarios.
48. Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos. (2015). *Características de Fosfato Sódico de Prednisolona*. Cuba: Ministerio de Salud Pública de Cuba.
49. Cayman Chemical. (2016). *Safety Data Sheet: Prednisolone*. Michigan, United States: Cayman Chemical Company, Ann Arbor.


11. ANEXOS

		PP-REG-LSAP-12.1.1/3
IDENTIFICACIÓN DE EQUIPO SUCIO O ÁREA SUCIA		
Área: <input type="checkbox"/>	Equipo: <input type="checkbox"/>	
Último producto trabajado:		
No. de lote:		
Fecha:		
AL REALIZAR LA LIMPIEZA RETIRAR Y DESECHAR ESTA ETIQUETA		


Anexo 1. Etiqueta de identificación de área o equipo sucio

		PP-REG-LSAP-12.1.1/2
IDENTIFICACIÓN DE EQUIPO LIMPIO O ÁREA LIMPIA		
Área: <input type="checkbox"/>	Equipo: <input type="checkbox"/>	
Producto a trabajar:		
No. de lote:	Fecha de expira:	
Último producto elaborado:	No. de lote del último producto elaborado:	
Solución utilizada para limpieza y sanitización:		
Fecha de limpieza y sanitización:	Responsable de limpieza y sanitización:	
Verificado por jefe de producción:		
Observaciones:		
LIMPIEZA VÁLIDA POR 24 HORAS		

Anexo 2. Etiqueta de identificación de equipo limpio o área limpia

	CC-REG-MLAE-12.3.1/1
LABORATORIO CHEMILCO INTERNACIONAL	
ETIQUETA DE CUARENTENA	
Producto Trabajado: _____ Lote: _____	
Área/Equipo en cuarentena: _____	
Fecha de limpieza: _____	

Anexo 3. Etiqueta de cuarentena e identificación de muestras



CC-REG-MLAE-12.3.1/2

LABORATORIO CHEMILCO INTERNACIONAL

ETIQUETA DE LIBERACIÓN

Producto Trabajado: _____ Lote: _____

Área/Equipo liberado: _____

Fecha de Liberación: _____ Autorizado por C.C: _____

Scanned with CamScanner

Anexo 4. Etiqueta de liberación e identificación de muestras

11.1 Glosario de términos

Análisis cualitativo

Análisis que son capaces de detectar cualquier compuesto que produce una respuesta, sirven únicamente para revelar la identidad y presencia de los componentes de una muestra. Los resultados de estas pruebas se expresan en palabras, nombres o símbolos de átomos, moléculas o iones.

Análisis cuantitativo

Análisis que posee la capacidad de identificar y cuantificar cada componente de una muestra. Los resultados son expresados con números, unidades de medición y especificando a qué compuesto pertenece cada dato.

Caducidad de la limpieza

Vigencia que tiene la limpieza efectuada en un área o equipo. Dependiendo del tipo de limpieza empleado, así varía la caducidad de la misma. Para la limpieza ordinaria se tiene una vigencia de 24 horas, mientras que la limpieza radical tiene una vigencia de 72 horas.

Criterio de las 10 ppm

También llamado límite por defecto, implementado por la FDA. Este criterio se utiliza cuando no se han establecido criterios más específicos para el control de algún residuo, siendo 10 ppm el límite máximo aceptable de residuos.

Cromatografía líquida de alta eficiencia	Método que posee la capacidad de separar, aislar, identificar y caracterizar los componentes de una mezcla compleja. La cromatografía líquida de alta eficiencia se basa en interacciones por polaridad de los componentes de una muestra con la columna.
Dosis terapéutica	Concepto utilizado para calcular residuos de ingredientes activos con dosis conocidas. Para la mayoría de fármacos se utiliza un factor de seguridad de 0.1% de la dosis terapéutica normal, esto significa que no más de este porcentaje puede aparecer en el producto fabricado posteriormente.
Información toxicológica	Es el método más generalizado para calcular los límites de residuos pero es útil cuando se desconoce la dosis del analito de interés. Se refiere al efecto tóxico de un componente en el cuerpo humano; este se estima a través de la toxicidad de la sustancia en animales, utilizando el factor de dosis media letal (LD ₅₀).
Inspección visual	Método subjetivo y no cuantitativo utilizado como primer criterio de evaluación de ausencia de residuos del producto fabricado. Este debe ser complementado por otros criterios. Para efectuar una inspección visual se debe evaluar si el área y/o equipo se encuentra limpio para poder proceder a realizar las pruebas de muestreo.
Límite de aceptación	Los límites de aceptación de residuos describen la cantidad máxima del analito de interés que puede existir en las superficies y puntos críticos. El analito de interés puede ser residuo de algún principio activo o de detergentes y soluciones de limpieza.
Limpieza	La limpieza se define como la eliminación de cualquier suciedad o impureza que se encuentre en un objeto o superficie. La limpieza es una actividad que complementa a la sanitización. Ambas acciones son recíprocas e imprescindibles.

Métodos analíticos	Los métodos analíticos son los procesos por los cuales se efectúa la cuantificación e identificación de algún analito. Según las Buenas Prácticas de Manufactura, para asegurar la confiabilidad de los métodos, estos deben ser validados en base a parámetros de linealidad, sensibilidad, exactitud, precisión, robustez, selectividad y límites de cuantificación.
Método de enjuague	También llamado método indirecto de muestreo. Este método se utiliza para muestrear superficies muy grandes y puntos inaccesibles en equipos que no pueden ser desmontados. Asimismo, es útil para el análisis y control de residuos de los agentes de limpieza.
Método de hisopado	También llamado método directo de muestreo. Este método es el más utilizado y es ideal para muestrear superficies irregulares del equipo y piezas fácilmente desmontables.
Sanitización	La sanitización o desinfección hace referencia a la reducción o disminución de microorganismos y a la inhibición del crecimiento microbiano para reducir su actividad por medio de agentes químicos y/o métodos físicos a un nivel que no afecta al ser humano. La sanitización se lleva a cabo después de una limpieza. Ambas acciones son recíprocas e imprescindibles. El término correcto es “desinfección”, sin embargo en Guatemala se utiliza el término de “sanitización”.
Validación	La validación se define como el establecimiento de evidencia documental que asegura que un procedimiento conducirá a la reproducibilidad de resultados. Debe ser efectuada conforme a protocolos definidos.
Validación de limpieza	Validación que sirve para confirmar la efectividad de cualquier procedimiento de limpieza que se emplee en las áreas y equipos que estén en contacto con el principio activo.

**Validación de métodos
analíticos**

Informe que establece con pruebas documentadas y que demuestran científicamente que el método analítico cuenta con las características de desempeño adecuadas para cumplir con los requerimientos de limpieza de trazas del analito de interés.