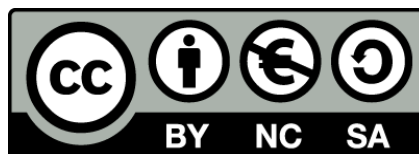




UNIVERSITAT DE
BARCELONA

Validación de los procesos de limpieza en la industria farmacéutica, mediante la aplicación del análisis de riesgo, seguridad toxicológica y UPLC

Wafae Rezquellah



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement- NoComercial – Compartir Igual 4.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento - NoComercial – Compartir Igual 4.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 4.0. Spain License.**



TESIS DOCTORAL

FACULTAD DE FARMACIA

DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

VALIDACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIMPIEZA EN LA
INDUSTRIA FARMACÉUTICA, MEDIANTE LA APLICACIÓN
DEL ANÁLISIS DE RIESGO, SEGURIDAD TOXICOLÓGICA Y
UPLC

WAFAE REZQUELLAH

Dirigida por:

Dra. Encarna García Montoya

Dra. Pilar Pérez Lozano

2015

UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA

VALIDACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIMPIEZA EN LA INDUSTRIA
FARMACÉUTICA, MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL ANÁLISIS DE RIESGO,
SEGURIDAD TOXICOLÓGICA Y UPLC

WAFAE REZQUELLAH

2015

UNIVERSIDAD DE BARCELONA
FACULTAD DE FARMACIA
DEPARTAMENTO DE FARMACIA Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICA
PROGRAMA DE DOCTORADO: RECERCA, DESENVOLUPAMENT I CONTROL DE MEDICAMENTS

VALIDACIÓN DE LOS PROCESOS DE LIMPIEZA EN LA INDUSTRIA
FARMACÉUTICA, MEDIANTE LA APLICACIÓN DEL ANÁLISIS DE RIESGO,
SEGURIDAD TOXICOLÓGICA Y UPLC

Memoria presentada por Wafae Rezquellah para optar al título de doctor por la Universidad
de Barcelona

Directora de la Tesis

Directora de la Tesis

Dra. Encarna García Montoya

Dra. Pilar Pérez Lozano

Doctorando

Wafae Rezquellah

WAFAE REZQUELLAH 2015

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a Dios Todopoderoso, ante todo, por haberme dado la existencia y permitido llegar al final para obtener este título.

A mis padres y mis hermanos por su amor y por su apoyo incondicional, a mi esposo por su comprensión, apoyo y su infinita paciencia. A mis hijos Haytam y Ayub por ser la fuente de mi inspiración y motivación.

Igualmente agradezco muy profundamente a todas las personas naturales que hicieron posible la realización del mismo, entre los que se deben mencionar:

Dr. José María Suñé, por su confianza, apoyo y dedicación, también por haberme dado la oportunidad de formar parte del equipo de SDM donde he podido fortalecer mis conocimientos y habilidades.

Dra. Encarna García y Dra. Pilar Pérez, que me han acompañado durante el largo camino brindándome siempre su ayuda, su atención y su apoyo contribuyendo incondicionalmente a lograr las metas y objetivos propuestos.

Dra. M. José Martínez del departamento de Microbiología de la Facultad de Farmacia, por su colaboración.

Dra. Carolina Carrillo revisora de este trabajo Doctoral cuyos comentarios han contribuido de manera importantísima a mejorar la calidad de este documento.

Al personal de SDM y mis profesores de la Facultad de Farmacia, por su apoyo y ánimo.

Finalmente, a todas y todos quienes de una u otra forma han colocado un granito de arena para la realización de este trabajo Doctoral, agradezco de forma sincera su valiosa colaboración.

A todos, dedico este trabajo y los llevo en mi corazón.

ÍNDICE

OBJETIVOS.....	13
INTRODUCCIÓN	15
PARTE BIBLIOGRÁFICA	21
1- Reglamentación	21
2- Contaminación	22
2.1-Contaminación cruzada.....	22
2.2- Tipos de contaminación	22
2.3- Origen de contaminación	23
2.4- Lucha contra la contaminación en planta farmacéutica.....	24
2.4.1-Tratamiento PREVENTIVO	25
a) Establecer barreras anticontaminación alrededor de la actividad protegida.....	25
b) Limitación de la generación de contaminantes por la propia actividad.....	26
2.4.2 Tratamiento CORRECTIVO	27
3-Métodos de limpieza	27
3.1- Tipos de limpieza de los equipos industriales.....	27
3.1.1- Limpieza manual	27
3.1.2- Limpieza semiautomática	27
3.1.3- Limpieza automática	28
a) CIP.....	28
b) COP.....	29
3.2- Procesos de limpieza.....	30
3.3- Los mecanismos de limpieza	30
3.4- Tipos de métodos de limpieza según la frecuencia del lavado	32
3.5- Equipos dedicados a un producto y equipos polivalentes.....	32
3.5.1- Equipos dedicados a un producto	32
3.5.2- Equipos polivalentes	33
3.6- Salas limpias o blancas	33
3.6.1- Definición de sala limpia o blanca	33
3.6.2- Categorías de las salas limpias o blancas	33
3.6.3- Características de las zonas limpias	35
3.6.4- El sistema de aire	35
4- Detergentes y limpieza	37
4.1- Clasificación de detergentes	38
4.1.1- Detergentes alcalinos	38
4.1.2- Detergentes ácidos	38

4.1.3- <i>Otros tipos de detergentes</i>	39
4.2- Elección de un detergente	39
5 - Validación de los procedimientos de limpieza	41
5.1- Tipos de validación	42
5.1.1- <i>Validación prospectiva</i>	42
5.1.2- <i>Validación concurrente</i>	42
5.1.3- <i>Validación retrospectiva o reiterada (revalidación)</i>	43
5.2- Sistema documental	43
5.2.1- <i>Protocolo de validación</i>	43
5.2.2- <i>Informe de validación</i>	44
5.3- Etapas de validación	45
5.3.1- <i>Preparar el CVMP</i>	45
a) <i>Plan maestro de validación de limpieza</i>	45
b) <i>Componentes del CVMP</i>	46
5.3.2- <i>Cualificación de los equipos</i>	46
a) <i>Definiciones</i>	47
5.3.3 - <i>Calcular los criterios y límite de aceptación</i>	49
a) <i>Límite relacionado con la dosis (dosis terapéutica)</i>	50
b) <i>Límite relacionado con la adulteración (presencia de trazas)</i>	51
c) <i>Criterio organoléptico (Visualmente limpio)</i>	51
d) <i>Criterio según el umbral de preocupación toxicológica (TTC)</i>	53
e) <i>Criterio según el PDE exposición diaria aceptable</i>	54
5.3.4- <i>Muestreo</i>	56
a) <i>Métodos de muestreo para la validación de limpieza</i>	56
b) <i>Estudio de recuperación</i>	58
c) <i>Plan de muestreo</i>	60
5.3.5- <i>Validación de los métodos analíticos</i>	62
a) <i>Método analítico</i>	62
5.4- Seguimiento de un proceso de limpieza validado	64
5.4.1- <i>Tiempo de permanencia limpio y sucio</i>	64
a) <i>Tiempo de permanencia del equipo limpio (Clean Hold Time)</i>	65
b) <i>Tiempo de permanencia del equipo sucio (Dirty Hold Time)</i>	65
5.4.2- <i>Análisis microbiológico</i>	66
6- Gestión de riesgo ICH Q9	68
6.1- Análisis de riesgos en la validación de limpieza	68
6.2- Herramientas para el análisis de riesgos	69
6.2.1- <i>Risk Ranking and Filtering (RRF)</i>	70
6.2.2- <i>Failure Mode and Effects Analysis (FMEA)</i>	71

6.3- Análisis de riesgos asociados a la validación de limpieza	74
6.3.1- Análisis de riesgo de los procedimientos de limpieza	74
6.3.2- Análisis de riesgo en el plan maestro de validación	74
6.3.3- Análisis de riesgo y el enfoque de la matriz de validación	74
6.4- Gestión de cambios	75
7- Calidad por diseño y validación de limpieza	76
7.1- Aplicación de los conceptos Q8 y espacio de diseño a la validación de limpieza....	77
7.2- PAT (Tecnología Analítica de Procesos) y la validación de limpieza.....	77
7.2.1- Técnicas analíticas que utilizan las tecnologías PAT para la validación de limpieza	78
7.3- Liberación paramétrica para la limpieza	81
7.4- Lean manufacturing y validación de limpieza	82
8-Validación del método analítico	83
8.1- Desarrollo y validación de los métodos analíticos utilizados para la determinación de los residuos por UPLC /HPLC	83
a) <i>Características de practicabilidad</i>	83
b) <i>Estudios de estabilidad de la muestra</i>	84
c) <i>Características de idoneidad</i>	84
d) <i>Características de fiabilidad</i>	84
8.2- Definición de los parámetros de validación.....	86
8.2.1- Selectividad	86
8.2.2- Linealidad	86
8.2.3- Precisión	86
a) <i>Repetibilidad del sistema instrumental</i>	87
b) <i>Repetibilidad del método</i>	87
c) <i>Precisión intermedia del método</i>	87
8.2.4- Exactitud	87
8.2.5- Intervalo de análisis	87
8.2.6- Idoneidad del sistema	87
8.2.7- Robustez	88
PARTE EXPERIMENTAL.....	89
MATERIALES Y MÉTODOS	89
1- Evaluación de los equipos y APIs y selección del peor caso	90
1.1- Recopilación de datos sobre el uso de los equipos y sobre los APIs.....	90
1.1.1 - Los equipos	91
1.1.2- Los principios activos	92
2- Selección de los puntos de toma de muestra de residuos	93
3- Muestreo	93
4- Cálculo de los criterios y determinación del límite de aceptación	95

5-Desarrollo y validación de los métodos analíticos utilizados para la determinación de los residuos por UPLC /HPLC	96
5.1- Equipo cromatográfico.....	96
5.2- Condiciones cromatográficas.....	97
5.3- Parámetros de validación	97
5.3.1- Estabilidad de la solución	97
5.3.2- Selectividad	97
5.3.3- Identificación del principio activo	97
5.3.4- Ausencia de interferencias con el principio activo	97
5.3.5- Linealidad	97
5.3.6- Precisión	98
a) Repetibilidad del Sistema Instrumental	98
b) Repetibilidad del método	98
c) Precisión intermedia	98
5.3.7- Robustez	98
5.3.8- Exactitud	99
6- Estudio del factor de recuperación	99
7- Optimización del procedimiento de limpieza	101
8- Tiempo de permanencia (limpio y sucio)	103
9- Ensayo microbiológico	103
RESULTADOS	105
1 –Evaluación de los equipos y APIs y selección del peor caso	105
1.1- Evaluación equipos	105
1.2- Evaluación de los principios activos.....	110
2 - Selección de los puntos de toma de muestra de residuos	119
3- Muestreo	124
4 - Cálculo de la superficie del equipo que entra en contacto con el producto fabricado	124
5 - Cálculo del límite de aceptación general para la validación de limpieza	126
5.1- Límite de aceptación calculado según el criterio de presencia de trazas	126
5.2- Límite de aceptación calculado según el criterio de fracción de dosis terapéutica	127
5.3- Límite de aceptación según TTC	127
5.4- Límite de aceptación según el criterio organoléptico	127
5.5- Selección del límite de aceptación	127
6 - Validación del método de análisis	128
6.1- Selectividad.....	130
6.2- Pureza.....	132
6.3- Linealidad	133

6.4- Precisión.....	138
6.4.1- Repetibilidad del sistema instrumental	138
6.4.2- Repetibilidad del método	140
6.4.3- Precisión intermedia	141
6.5- Exactitud	145
6.6- Robustez.....	150
6.6.1- Longitud de onda	150
6.6.2- Volumen de inyección	151
6.6.3- Temperatura de la columna	153
6.6.4- Flujo	154
6.6.5- Porcentaje solución reguladora	155
6.6.6- pH solución reguladora	157
6.6.7- Columna	158
6.7- Estabilidad de la solución	160
7- Estudio de recuperación	163
8- Optimización del proceso de limpieza	165
8.1- Análisis de datos para residuo medio.....	170
8.1.1- Interpretación de los efectos principales sobre la media de los residuos	171
8.1.2- Interpretación de los efectos de las interacciones sobre la media de los residuos ...	172
8.2- Análisis para residuos en los punzones.....	175
8.2.1- Interpretación de los efectos principales sobre los punzones	176
8.2.2- Interpretación de los efectos de las interacciones sobre los residuos de los punzones	177
8.3- Análisis para el resto de los puntos (Sin punzones).....	179
8.3.1- Interpretación de los efectos principales sobre el resto de los puntos	180
8.3.2- Interpretación de los efectos de las interacciones sobre el resto de los puntos	181
8.4- Comprobación de la validez del método optimizado.....	184
9-Tiempo de permanencia	185
10- Análisis microbiológico	188
11- PNT de validación limpieza	189
DISCUSIÓN.....	191
CONCLUSIONES	195
ANEXOS.....	209
PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES	217

Índice de Figuras

- Figura 1: Procedimiento de fabricación de los medicamentos
- Figura 2: Lucha contra la contaminación: Tratamiento correctivo
- Figura 3: Barreras anticontaminación: Sobrepresión de salas
- Figura 4: Ejemplo de un sistema de descontaminación del personal para entrar en un área limpia estéril
- Figura 5: Ejemplo de un sistema CIP, simple y de recirculación
- Figura 6: Ejemplo de sistema farmacéutico de COP, lavado por inmersión de piezas
- Figura 7: Círculo de Sinner
- Figura 8: Componentes del sistema de producción de aire farmacéutico
- Figura 9: Patrones de flujo del aire
- Figura 10: Composición de los detergentes
- Figura 11: Figura representativa para la elección de un detergente
- Figura 12: Capacidad de limpieza de los tres tipos de detergentes
- Figura 13: Secuencia de validación/cualificación de un producto
- Figura 14: Movimiento del swab sobre la superficie muestreada
- Figura 15: Modelo general de gestión de riesgos de la calidad
- Figura 16: El proceso de RRF (Risk Ranking and Filtering)
- Figura 17: Cuando se emplea FMEA
- Figura 18: El proceso de FMEA
- Figura 19: Análisis de riesgo en la validación
- Figura 20: Creación del espacio de diseño a partir de los estudios de caracterización y su relación con el rango de operación y de caracterización
- Figura 21: Evolución y futuro de la aplicabilidad de los métodos analíticos PAT a la validación de limpieza
- Figura 22: Diagrama de flujo del proceso de validación de limpieza
- Figura 23: Swab utilizado en el estudio
- Figura 24: Cromatógrafo Dionex Ultimate 3000
- Figura 25: Estudio de recuperación sobre las placas
- Figura 26: Escobillones Alpha®
- Figura 27: Laminocultivos Hygicult®
- Figura 28: Representación gráfica de los resultados del análisis RRF para los equipos de la planta piloto SDM
- Figura 29: Foto de la comprimidora RIVA
- Figura 30: Fotos de los puntos críticos utilizados en el muestreo
- Figura 31: Ejemplo de cálculo de la superficie de la amasadora TURU AMG
- Figura 32: Cromatograma correspondiente al blanco del disolvente
- Figura 33: Cromatograma correspondiente al blanco del swab

Figura 34: Cromatograma correspondiente a la quetiapina fumarato

Figura 35: Cromatograma correspondiente al patrón de quetiapina fumarato de Clorvis

Figura 36: Figura correspondiente al estudio de pureza de pico de la materia prima quetiapina fumarato

Figura 37: Gráfica correspondiente a la relación lineal entre la concentración ensayada y la respuesta hallada

Figura 38: Cromatograma correspondiente a la linealidad 1, concentración de 2,94 $\mu\text{g/ml}$

Figura 39: Cromatograma correspondiente a la linealidad 1, concentración de 5,5 $\mu\text{g/ml}$

Figura 40: Cromatograma correspondiente al estudio de repetibilidad del sistema instrumental, día 1

Figura 41: Cromatograma correspondiente al estudio de repetibilidad del sistema instrumental, día 2

Figura 42: Cromatograma correspondiente al estudio de la repetibilidad intermedia, analista 1, día 1

Figura 43: Cromatograma correspondiente al estudio de la repetibilidad intermedia, analista 2, día 2

Figura 44: Cromatograma correspondiente al estudio de la repetibilidad intermedia, analista 2

Figura 45: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (patrón al 6,3 %)

Figura 46: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (problema al 6,3 %)

Figura 47: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (patrón al 100 %)

Figura 48: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (problema al 100 %)

Figura 49: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (patrón al 150 %)

Figura 50: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (problema al 150 %)

Figura 51: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función de la longitud de onda

Figura 52: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del volumen de inyección

Figura 53: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función de la temperatura de la columna

Figura 54: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del flujo

Figura 55: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del porcentaje de la solución reguladora

Figura 56: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del pH de la solución reguladora

Figura 57: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del lote de la columna

Figura 58: Gráfica correspondiente al estudio de estabilidad de la solución patrón.

Figura 59: Cromatograma correspondiente al estudio de estabilidad de la solución de patrón quetiapina fumarato (tiempo cero)

Figura 60: Cromatograma correspondiente al estudio de estabilidad de la solución de patrón quetiapina fumarato (tiempo 120 horas)

Figura 61: Material utilizado para el estudio de recuperación

Figura 62: Procedimiento seguido en el SDM cuando entra un nuevo equipo o un nuevo API

Lista de las tablas:

Tabla 1: Etapas de procesos de limpieza

Tabla 2: Comparación de los diferentes tipos de limpieza

Tabla 3: Clasificación ISO de las salas blancas y zonas limpias en función del tamaño y la cantidad de partículas

Tabla 4: Clasificaciones de las GMPs establecidas para el estudio de áreas limpias (Anexo 1, 2008)

Tabla 5: Contaminación microbiana: Límites recomendados en actividad según las GMPs de la Unión Europea

Tabla 6: Características de detergentes

Tabla 7: Resumen de las fases de la cualificación de equipos

Tabla 8: Factor de seguridad dependiendo de la vía de administración

Tabla 9: Aplicación metodología de los VRL en una planta industrial: condiciones a tener en cuenta

Tabla 10: Características básicas de los materiales de superficie más comunes en los equipos farmacéuticos

Tabla 11: Ventajas y desventajas de los métodos de análisis

Tabla 12: Comparación de los métodos físicos-químicos de análisis

Tabla 13: Criterios de aceptación de la calidad microbiológica para las diversas formas de dosificación no estériles

Tabla 14: Tabla para llevar a cabo un análisis de riesgo mediante la herramienta FMEA

Tabla 15: Técnicas analíticas utilizadas en sistemas PAT para la verificación de la limpieza

Tabla 16: Metodología progresiva de implementación de PAT en validación de limpieza

Tabla 17: Clasificación de las diferentes categorías y parámetros de validación según la USP 24

Tabla 18: Clasificación de las categorías de los ensayos y parámetros de validación según las guías ICH

Tabla 19: Los parámetros del equipo y su factor asignado según riesgo

Tabla 20: Clases de toxicidad (Gosselin et al. 1984)

Tabla 21: Rangos de toxicidad (Deichman y Gerarde, 1969)

Tabla 22: Los diferentes criterios empleados en el cálculo del límite de aceptación

Tabla 23: Resumen de las variaciones realizadas en las condiciones cromatográficas para el estudio de robustez

Tabla 24: Factores principales del procedimiento de limpieza utilizado

Tabla 25: Las diferentes combinaciones de limpieza estudiados en el DOE

Tabla 26: Los procedimientos de limpieza utilizados en el estudio del tiempo de permanencia limpio/sucio

Tabla 27: Características de los equipos de la planta piloto SDM (2000-2010)

Tabla 28: RRF calculado para los equipos del SDM (2000-2010)

Tabla 29: Equipos ordenados según valoración riesgo realizado

Tabla 30: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010)

Tabla 31: Listado de los APIs con su toxicidad

Tabla 32: Relación de los tres primeros APIs analizados como más tóxicos, según el análisis de los datos de toxicidad

Tabla 33: Los puntos críticos utilizados en el muestreo y su superficie calculada

Tabla 34: Equipos críticos y sus superficies calculadas

Tabla 35: Resumen de los diferentes límites de aceptación calculados para el equipo más crítico en la planta piloto

Tabla 36: Tabla correspondiente a las cantidades de principio activo pesadas para la obtención de la linealidad en un intervalo que va de 6,25 % a 150 % de la concentración de trabajo

Tabla 37: Tabla correspondiente a los resultados obtenidos para el ensayo de linealidad

Tabla 38: Resumen estadístico de la recta de regresión realizado en el estudio de linealidad

Tabla 39: Tabla correspondiente a los resultados estadísticos realizados de forma conjunta para los dos días en estudio

Tabla 40: Tabla correspondiente a los resultados obtenidos para el estudio de repetibilidad del sistema instrumental

Tabla 41: Tabla correspondiente a los resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad de la solución patrón

Tabla 42: Tabla resumen de los resultados obtenidos para el estudio de precisión intermedia, un mismo analista, días diferentes

Tabla 43: Tabla resumen de los resultados obtenidos en el estudio de precisión intermedia, diferentes analistas

Tabla 44: Tabla correspondiente a los pesos tomados de principio activo para el ensayo de exactitud

Tabla 45: Resumen de los resultados obtenidos en el estudio de exactitud

Tabla 46: Resultados de la recuperación en función de la longitud de onda

Tabla 47: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para la longitud de onda

Tabla 48: Resultados de la recuperación en función del volumen de inyección

Tabla 49: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el volumen de inyección

Tabla 50: Resultados de la recuperación en función de la temperatura de la columna

Tabla 51: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para la temperatura de la columna

Tabla 52: Resultados de la recuperación en función del flujo

Tabla 53: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el flujo

Tabla 54: Resultados de la recuperación en función de la proporción en solución reguladora

Tabla 55: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el porcentaje de la solución patrón

Tabla 56: Resultados de la recuperación en función del pH de la solución reguladora

Tabla 57: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el pH de la solución reguladora

Tabla 58: Resultados de la recuperación en función del lote de la columna

Tabla 59: Análisis de variable columna

Tabla 60: Resumen de los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad de la solución patrón de quetiapina fumarato

Tabla 61: Factores de recuperación calculados para el acero inoxidable

Tabla 62: Factores de recuperación calculados para el plástico

Tabla 63: Resultados de las diferentes combinaciones o lotes analizados por piezas muestreadas del equipo

Tabla 64: Resultados de los residuos medios por cada punto de muestreo

Tabla 65: ANOVA de los resultados de residuos (medias)

Tabla 66: El método de limpieza óptimo para obtener un valor óptimo -4,94162 (medias), según el programa

Tabla 67: El método de limpieza óptimo para el valor óptimo 0 (medias), especificado por el usuario al programa

Tabla 68: ANOVA de los resultados de residuos (punzones)

Tabla 69: El método de limpieza óptimo para Punzones

Tabla 70: ANOVA de los resultados de residuos (Resto)

Tabla 71: El método de limpieza óptimo (mínimo posible) para Resto

Tabla 72: El método de limpieza óptimo (cero) para Resto

Tabla 73: Parámetros que afectan a la cantidad de los residuos

Tabla 74: Optimización del método de limpieza

Tabla 75: Resultados obtenidos con el método de limpieza optimizado en el mismo equipo

Tabla 76: Resultados tiempo de permanencia sucio 1

Tabla 77: Resultados tiempo de permanencia sucio 2

Tabla 78: Resultados de la repetición del tiempo de permanencia sucio 2 Pc1 y Pc2

Tabla 79: Resultados del análisis microbiológico cuatro días tras la limpieza

Lista de los gráficos:

Gráfico 1: Diagrama de Pareto respecto a los residuos (medias)

Gráfico 2: Representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre los residuos (medias)

Gráfico 3: Gráfico proporcionado por Statgraphics Plus 5.0 para las seis interacciones: AB, AC, AD, BC BD, CD. (Medias)

Gráfico 4: Gráfico de superficie de respuesta para los residuos (medias)

Gráfico 5: Gráfico de contornos de superficie de respuesta estimada para los residuos (medias)

Gráfico 6: Diagrama de Pareto respecto a los residuos (punzones)

Gráfico 7: Representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre los residuos (punzones)

Gráfico 8: Gráfico proporcionado por Statgraphics Plus 5.0 para las seis interacciones: AB, AC, AD, BC BD, CD. (Punzones)

Gráfico 9: Gráfico de superficie de respuesta para los residuos (punzones)

Gráfico 10: Gráfico de contornos de superficie de respuesta estimada para los residuos (punzones)

Gráfico 11: Diagrama de Pareto respecto a los residuos (Resto)

Gráfico 12: Representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre los residuos (Resto)

Gráfico 13: Gráfico proporcionado por Statgraphics Plus 5.0 para las seis interacciones: AB, AC, AD, BC BD, CD. (Resto)

Gráfico 14: Gráfico de superficie de respuesta para los residuos (Resto)

Gráfico 15: Gráfico de contornos de superficie de respuesta estimada para los residuos (Resto)

Gráfica 16: Utilizando el procedimiento 1 (sin detergente, T 34°C y sin frotar)

Gráfica 17: Utilizando el procedimiento 2 (10% de detergente, tiempo de contacto 10 min, T 70°C y frotando durante un minuto)

OBJETIVOS

El estudio se realiza en una planta piloto donde el cumplimiento de las GMPs (Good Manufacturing Practices) requiere una planificación exhaustiva ya que los procesos llevados a cabo difieren considerablemente de los utilizados en la producción industrial: diferentes principios activos que pasan por el mismo equipo; la combinación de diferentes equipos para la misma forma de dosificación; el uso de cargas variables; los cambios en la formulación de un producto que puede estar todavía en la fase de desarrollo; muestras complejas para las que no existe ningún método analítico específico todavía; y la necesidad de la rapidez y eficiencia en el desarrollo de nuevas formulaciones de los nuevos medicamentos. Lógicamente, en un entorno regulado como el de las GMPs, se exige que no haya contaminación cruzada entre diferentes productos, incluso en el desarrollo farmacéutico.

Antes de que cualquier operación de fabricación se inicie, se deben tomar medidas para garantizar que el área de trabajo y los equipos estén limpios y libres de cualquier material de partida, productos o residuos que puedan alterar la seguridad, la identidad, potencia, calidad o pureza del producto farmacéutico.

Así, este trabajo tiene dos objetivos principales:

- 1- Desarrollar una metodología universal, efectiva, económica y extrapolable en el tiempo para llevar a cabo la validación de los procesos de limpieza en una planta piloto aplicando las herramientas de análisis de riesgo ICH Q9 Quality Risk Management (según el anexo 20 GMP), para la elección de los equipos a estudiar y aplicando también el concepto de TTC (el umbral de preocupación toxicológica) para el cálculo del límite permisible residual.
- 2- Establecer una metodología para determinar el espacio de diseño universal* para un procedimiento de limpieza eficaz basado en ICH Q8 Pharmaceutical Development.

Para alcanzar estos objetivos principales el trabajo se llevará a cabo en varias etapas con objetivos secundarios que se listan a continuación:

- 1- Determinar los puntos críticos de los equipos de la planta piloto;
- 2- Determinar los límites aceptables del principio activo indicador;
- 3- Determinar el método analítico y validarlo utilizando como técnica de análisis para los residuos, la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) en fase reversa con detector DAD;

*Cuando se habla de universal se refiere al universo concreto del SDM.

- 4- Establecer el método de muestreo para la validación;
- 5- Calcular el factor de recuperación en dos tipos de materiales: acero inoxidable y plástico que son los materiales habituales de las superficies de los equipos del SDM;
- 6- Optimizar el procedimiento de limpieza utilizado actualmente en el SDM.

En resumen, se persigue cumplir las normas de correcta fabricación (NCF) mediante el establecimiento de unos límites de aceptación lógicos y justificables. Se pretende crear un sistema de gestión de la validación de los procesos de limpieza utilizados en la planta piloto que servirá para detectar de forma rápida si el sistema permanece en estado o consideración “validado” o requiere más esfuerzo de validación cada vez que se tenga que trabajar con un nuevo principio activo.

INTRODUCCIÓN

Según las GMPs, todas las etapas de fabricación de los medicamentos deben ser **validadas** y controladas para asegurar que el producto acabado cumple con las especificaciones predeterminadas y los reglamentos establecidos legalmente.

La validación es una prueba o demostración de que algo hace lo que debe o lo que estaba previsto. Carlberg, 1995, la define como: *“la documentación completa que detalla que todos los procesos y procedimientos están funcionando como se ha diseñado”*. También Agalloco y Carleton, (2007) dan varias definiciones, entre ellas: *“es un programa científicamente diseñado para probar que un proceso siempre hace lo que está diseñado para hacer”*. La FDA (Food and Drug Administration) (FDA, 1993) declaró que el objetivo de cualquier proceso de validación es demostrar con datos científicos que el sistema siempre trabaja como se esperaba y que en condiciones normales produce un resultado que siempre cumple con las especificaciones predeterminadas. Todos estos requisitos también aparecen en las NCF de la UE (NCF, 2014).

La validación requiere la comprobación de materiales y equipos, así como de los procedimientos que constituyen el proceso. Por otro lado, en los procesos de validación, las pruebas que demuestran que un proceso hace lo que pretende hacer deben estar documentadas. En este sentido, los expertos de la FDA aconsejan la redacción de protocolos sobre los procesos de validación. Estos protocolos deben ser redactados y verificados, es decir, deben ser probados y deben establecer los criterios de aceptación y también los periodos de revalidación (Calberg, 1995).

Desde la publicación de la "Guía para la Inspección de Validación del Proceso de Limpieza" (FDA, 1993), la validación de la limpieza ha recibido una atención creciente por parte de la industria farmacéutica y de las autoridades sanitarias, no quedando circunscrita sólo a la empresa farmacéutica sino que también se requiere para la industria biosanitaria y alimentaria (Rathore, 2007).

La validación de los procedimientos de limpieza está presente en las operaciones industriales de producción farmacéutica desde hace más de 20 años y durante mucho tiempo ha estado entre los primeros puestos en la lista o ranking de problemas generadores de Warning Letters

de la FDA en EEUU, por ejemplo en el 2010 ha estado en los tres primeros puestos (Rivera, 2013). De 646 citaciones en total para medicamentos:

- 71 citaciones: relacionadas con “procedimientos escritos no están establecidos/no se siguen para la limpieza y mantenimiento del equipo...” [21CFR 211.67 (b)]
- 61 citaciones: relacionadas con “equipo y utensilios no se limpian/sanitizan/mantienen a intervalos apropiados” [21CFR 211.67 (a)]
- 31 citaciones: relacionadas con “procedimientos escritos para limpieza y mantenimiento falló en incluir...” una variedad de artículos incluyendo itinerarios de limpieza con suficientes detalles. [21CFR 211.67 (b)]

La limpieza es un paso fundamental y obligatorio de cualquier proceso farmacéutico que garantiza la calidad de los productos fabricados. Cada empresa debe optimizar sus procesos de limpieza a nivel de concepción y de aplicación, teniendo en cuenta que todo proceso de limpieza no controlado aumenta el precio de fabricación y disminuye su calidad y seguridad.

El proceso de limpieza reduce los residuos, lo cual no significa que los elimine totalmente. Así pues, lo que se busca es disminuir el contenido de residuos hasta un límite preestablecido y aceptable. Una parte fundamental del proceso de limpieza es definir cuál es este nivel mínimo aceptable que no supone ningún riesgo para el consumidor final. La limpieza busca la reducción del contenido de residuos de la superficie de los equipos, de las zonas en exposición y comunes entre los diferentes productos y que son, por tanto, potenciales vectores de transmisión de los residuos de un producto a otro. Esta reducción de residuos debe caracterizarse por ser constante, no aleatoria, y debe darse de una forma repetitiva y reproducible.

El diseño de un proceso de validación implica evaluar un determinado proceso de limpieza, de manera que este queda absolutamente definido en cuanto a los parámetros críticos del mismo, tales como: tiempo, temperatura, tipo de ciclos, números de ciclos, detergentes, etc. A causa de los estudios que implica, la validación de la limpieza lleva a una mejor comprensión del proceso, que a su vez permite un mejor control y, como consecuencia, mayor reproducibilidad y eficiencia.

La validación de la limpieza se requiere en el campo farmacéutico para evitar posibles interacciones sinérgicas clínicamente significativas entre productos químicos farmacológicamente activos. (Berry y Nash, 2003)

Entre las causas que han llevado a un mayor control de la contaminación cruzada podemos mencionar la existencia de una nueva generación de productos muy potentes (Hall, 2003), las trágicas consecuencias de las contaminaciones ocurridas repetidamente como por ejemplo con sulfanilamida en más de 100 personas (Frederic, 2013) y el hecho de tener en cuenta que existen individuos alérgicos a determinadas sustancias, como es el caso de la penicilina y las cefalosporinas.

En la validación de la limpieza se trata de conseguir pruebas documentadas con un alto grado de garantía de que se ha limpiado un sistema o una pieza de un equipo hasta unos límites aceptables y predeterminados. Todo esto se realiza para verificar la eficacia de los procedimientos de limpieza y para asegurar que no existen riesgos asociados con la contaminación cruzada de los ingredientes activos, detergentes o desinfectantes cuando se elaboran en un mismo equipo.

Actualmente en el Servicio de Desarrollo del Medicamento (SDM) de la Universidad de Barcelona, planta piloto de tecnología farmacéutica dedicada a la investigación, diseño y desarrollo de medicamentos, todavía no está implementado el plan maestro de validación de los procedimientos de limpieza, esto significa que para la planta piloto es un problema no resuelto. Aunque en el SDM no se fabrican medicamentos destinados al consumo humano, no se puede olvidar que el proceso de limpieza es una parte importante en el desarrollo del medicamento según el anexo 13 de las GMPs y sería una mejora de la calidad de los medicamentos en investigación fabricados.

El programa de validación de la limpieza implica identificar los residuos*, seleccionar el método (o métodos) para su identificación, elegir el método de muestreo, determinar el límite de aceptación de residuos en las superficies de los equipos, calcular el factor de recuperación, escribir el procedimiento y formar al personal implicado. El procedimiento de limpieza se debe repetir al menos tres veces para demostrar su eficacia antes de utilizarlo en rutina en el proceso de fabricación, así se puede garantizar la validez del estado de “limpio” de los equipos de fabricación durante un periodo de tiempo estudiado.

*Restos de principios activos y sus productos de degradación, excipientes y sus productos de degradación, partículas y polvo ambiental, residuos provenientes de equipos y, finalmente, microorganismos y endotoxinas.

En el planteamiento tradicional cada principio activo requiere una limpieza diferente y probablemente una validación de limpieza diferente. La novedad de la aplicación de un plan de validación de procesos de limpieza en planta piloto en base a la gestión de riesgos es poder **disponer de un sistema de gestión de la validación de limpieza para todos los equipos y principios activos** utilizados en la fabricación.

A causa de la variedad de los principios activos que podrán entrar en contacto con los equipos, se pretende que cada vez que se utilice un principio activo por primera vez, se introduzca en la matriz de riesgo (ver PNT en anexos). Si el riesgo calculado resultante es mayor que el peor caso validado, habrá que volver a validar el proceso de limpieza, mientras que si es igual o menor, el principio activo queda incluido dentro del plan de validación establecido previamente y por lo tanto, no se requiere su re-validación.

Cabe destacar que no es la primera vez que la validación de limpieza es motivo de una tesis doctoral (Faucher 1995 y Bailly 2004) ambas en Francia, donde la implicación industria universidad es total. En ambos casos se hace un resumen de la estrategia de validación propuesta, pero no profundizan más en el tema. En este caso se van a aplicar el concepto de calidad total y las herramientas propuestas por las ICH Q10, Q9 y Q8 temas que por el momento no se han aplicado a la validación de la limpieza, además de aplicar los conceptos de TTC para el cálculo de los límites de aceptación (ver figura 1).

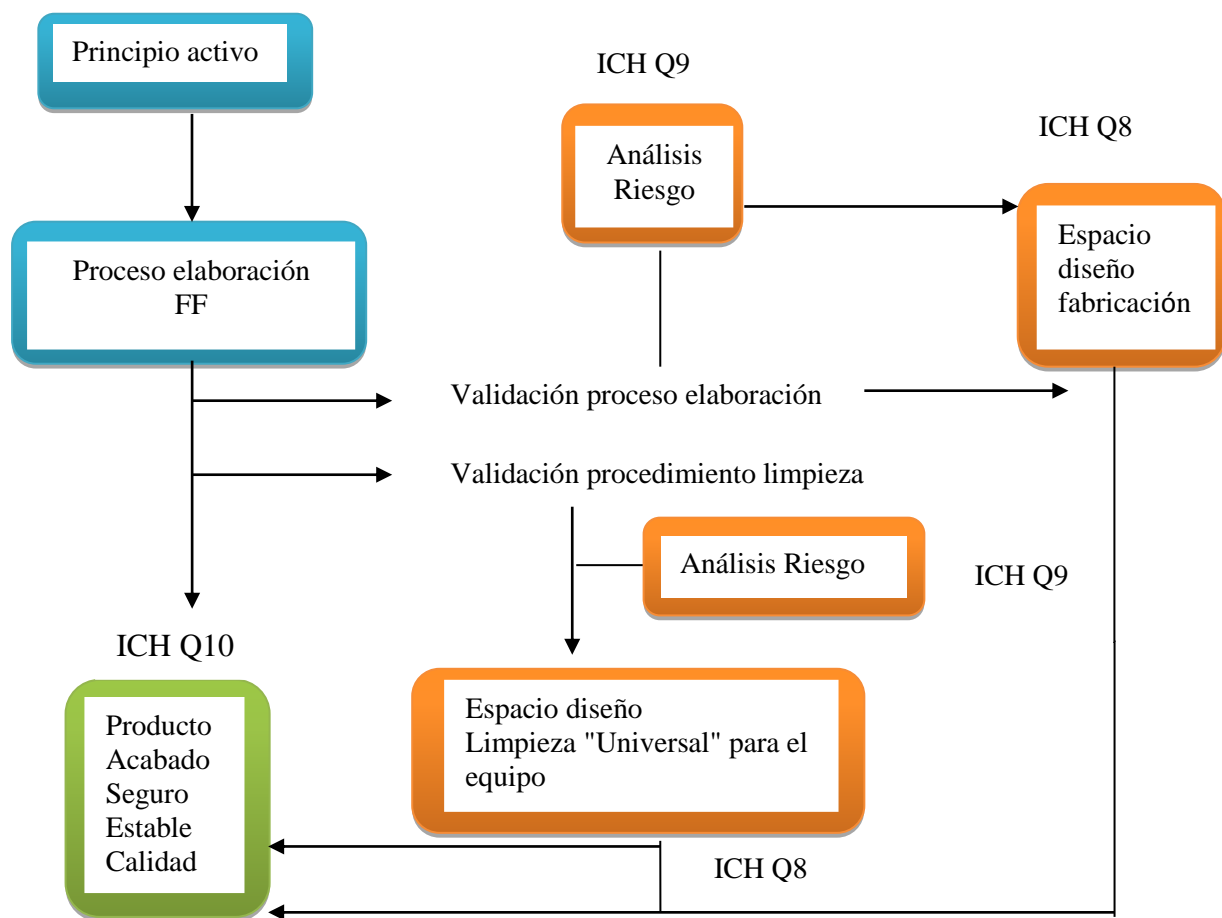


Figura 1: Procedimiento de fabricación de los medicamentos (proceso tradicional al cual se han añadido las directrices de las ICH)

PARTE BIBLIOGRÁFICA

1- Reglamentación

La validación de la limpieza es un área que si bien siempre ha sido importante, no apareció como motivo de una reglamentación específica hasta 1993, cuando la FDA publicó la primera “Guía para Inspecciones: Validación del Proceso de Limpieza” (FDA, 1993) que particularmente destacaba los siguientes puntos :

- Debe haber procedimientos escritos que detallen los procesos de limpieza, los procedimientos de muestreo y los métodos analíticos utilizados incluyendo la sensibilidad de los mismos.
- Los estudios de validación de limpieza deben llevarse a cabo de acuerdo con protocolos aprobados y los resultados de los estudios deben documentarse. Los procedimientos generales de validación deben mencionar quién es el responsable de realizar y aprobar el estudio de validación, los criterios de aceptación, y cuando será necesaria la revalidación.
- Debe haber un informe de validación final, aprobado por el responsable y donde se especifica la gestión que indica si el proceso de limpieza es válido o no. Los datos deben incluir la conclusión de que los residuos se han reducido a un nivel aceptable.

En 1996, la Convención de Inspección Farmacéutica (PIC) publicó su guía (PH 1/96; versión actual: Recomendaciones PI 006-3 del 25 de septiembre de 2007) (PIC,2007), que proporcionó una descripción muy detallada de los principios fundamentales de la calificación y validación y, en un capítulo especial, de la validación de la limpieza.

Realmente no existen muchas guías específicas oficiales, apareciendo la validación de la limpieza en las normas oficiales como un punto o dentro del apartado validación. Por ejemplo en la guía ICH Q7 (ICH Q7, 2000), en la guía de Normas de Correcta Fabricación de la UE (Eudralex vol4, Capítulo 3, 5 y anexo 15 de validación) (NCF, 2015),o en la Organización Mundial de Sanidad OMS (WHO Annex 2, 2010).

El 20 de Noviembre de 2014, la Agencia Europea del medicamento EMA ha aprobado una nueva guía: Fijación de límites de exposición para análisis de riesgos en instalaciones multiproducto (EMA,2014). Es la primera guía que define las pautas a seguir para definir el límite de exposición diaria (PDE) en residuos activos basado en los datos toxicológicos, farmacológicos y farmacocinéticos para evaluar la compatibilidad de productos en instalaciones compartidas y definir el riesgo de contaminación cruzada.

Tanto la nueva guía EMA como las revisiones de los capítulos 3 y 5 de las NCF (en vigor desde el 1 de Marzo 2015) determinan una nueva forma de afrontar el análisis de riesgos para instalaciones multiproducto o la necesidad de instalaciones dedicadas, así como la fijación teórica de los límites de limpieza.

Esta normativa introduce como punto de partida la elaboración de informes toxicológicos y el cálculo científico de los valores de exposición diaria permitida (PDE/ADE) basado en datos farmacológicos, toxicológicos y farmacocinéticos. Estos valores son utilizados, no sólo para definir los límites que deben cumplir las validaciones de limpieza, sino para evaluar la posibilidad de compatibilizar productos en una línea multiproducto y como criterio objetivo para definir el riesgo de contaminación cruzada.

2- Contaminación

Según la organización mundial de la salud (OMS, 2011), la contaminación es la introducción no deseada de impurezas de naturaleza química o microbiológica, o de materias extrañas, en (o sobre) un material de partida o producto intermedio de un medicamento durante la producción, el muestreo, el envasado, almacenamiento o transporte.

2.1-Contaminación cruzada

La guía de las NCF (NCF, 2014) establece el concepto de contaminación cruzada como *“cualquier contaminación accidental procedente de la liberación incontrolada de gases, polvos, aerosoles, vapores o de los organismos a partir de materias primas y productos durante la fabricación, a partir de los residuos de equipos y de la ropa para los operadores”*. Se entiende, pues, como la contaminación de un material de partida (ya sea un principio activo ó un excipiente) con otro. Es decir la mezcla indeseada de diferentes principios activos ó excipientes entre sí. Así, queda claro que el término de contaminación cruzada, abarca tanto contaminación química, particular como microbiológica.

2.2- Tipos de contaminación

Dependiendo de su origen, se puede clasificar la contaminación en:

- Contaminación física: polvo, fibras, plástico, papel...
- Contaminación química: otros APIs, impurezas, productos de degradación, disolventes residuales...
- Contaminación microbiológica: bacterias, hongos, virus...
- Contaminación orgánica: grasas, proteínas, azúcar...

- Contaminación inorgánica: óxidos...

Es importante conocer la solubilidad en agua de estos contaminantes para poder eliminarlos con el proceso de limpieza. Algunos de ellos son difíciles de eliminar con agua neutra debido a su poca solubilidad y otros son insolubles como es el caso de las grasas, proteínas y productos de descomposición. En estos casos es necesario recurrir a aguas básicas o ácidas o incluso disolventes orgánicos.

La eliminación o extracción de estos compuestos se puede facilitar utilizando:

- Agua a presión: equivalente a energía mecánica
- Agua a temperaturas elevadas: equivalente a energía térmica
- Detergentes adecuados: equivalente a energía química

Ver apartado 3.3 de mecanismos de limpieza o ciclo de Sinner.

En el caso de la contaminación cruzada con otro API:

Dependiendo de su efecto terapéutico el residuo contaminante puede causar un efecto sinérgico o un efecto antagonista o puede tener otro efecto terapéutico, con lo cual se debe validar.

Respecto a la contaminación con el agente de limpieza o de desinfección:

Se debe trabajar con un agente de limpieza efectivo de baja toxicidad. Los disolventes orgánicos se consideran como agentes de limpieza cuando se usan en el procedimiento de limpieza, por ejemplo el alcohol isopropílico (aunque es bastante volátil y se usa para facilitar el secado del equipo) puede ser absorbido por el plástico, membranas o superficies porosas, con lo cual debe demostrarse su completa eliminación de los equipos durante la validación de la limpieza.

En caso de la contaminación microbiológica:

Es una contaminación potencialmente grave ya que la contaminación puede desarrollarse en cualquier momento. Para cualquier forma farmacéutica y especialmente para las estériles se debe identificar y controlar la contaminación microbiológica (control de bioburden o los niveles de endotoxinas) y llevar a cabo programas de control microbiológico ambiental.

2.3- Origen de contaminación

La contaminación puede tener dos orígenes claramente diferenciados: externo e interno (Hall, 2003).

EXTERNO: Será aquella contaminación producida por el aporte de componentes o productos de origen físico, químico o microbiológico que puedan venir desde el exterior, ya sea en la materia prima, en los materiales de acondicionamiento, en excipientes o bien otros.

INTERNO: Será aquella contaminación producida en las propias instalaciones farmacéuticas, en cualquier fase del proceso productivo.

2.4- Lucha contra la contaminación en planta farmacéutica

En la figura 2, se puede observar la mayoría de los elementos que intervienen en la contaminación farmacéutica y las actuaciones posibles: Tratamiento preventivo o correctivo.

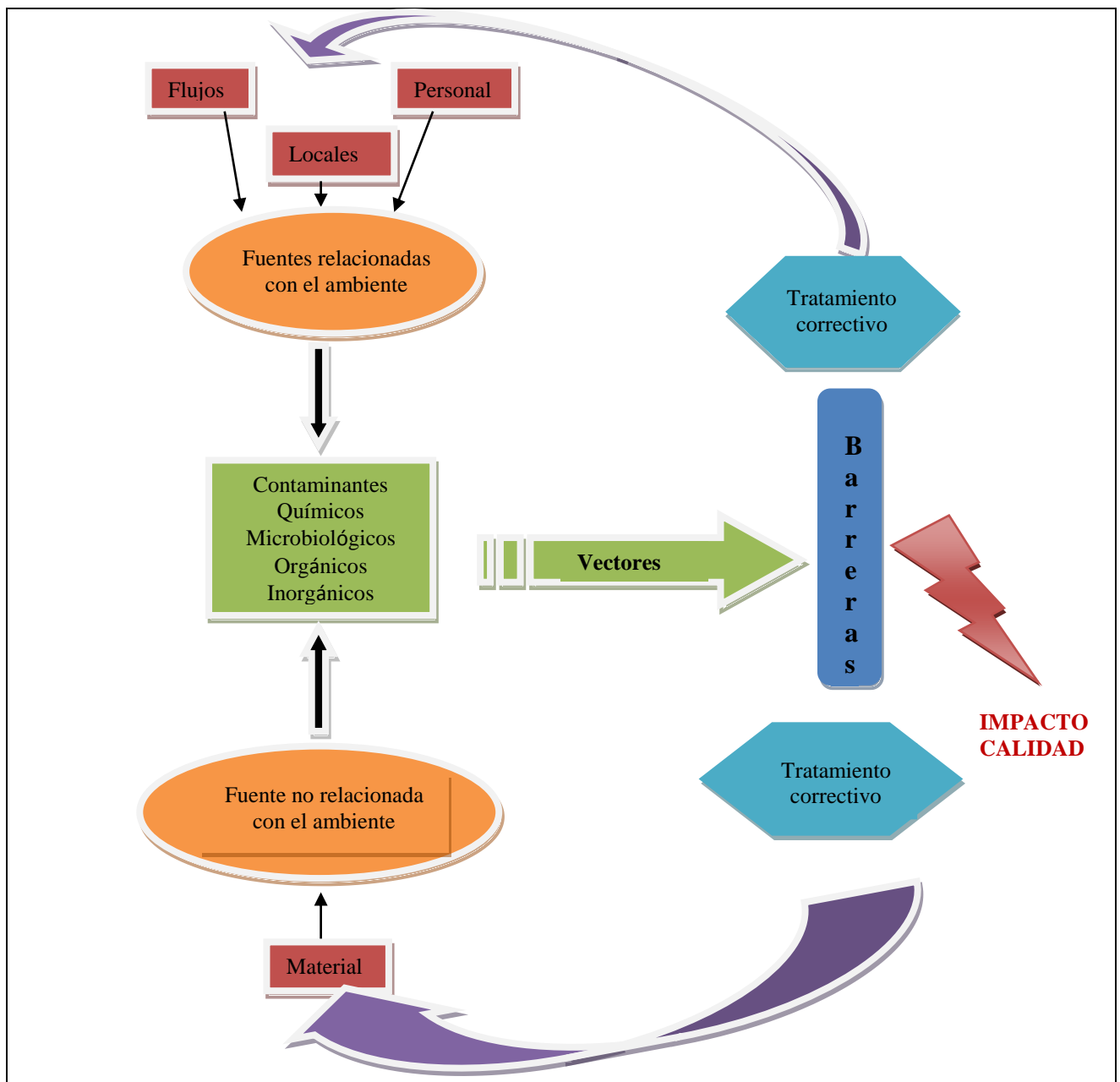


Figura 2: Lucha contra la contaminación: Tratamiento correctivo (Bailly, 2004)

2.4.1-Tratamiento PREVENTIVO

La prevención es, sin duda, la mejor manera de luchar eficazmente contra cualquier fuente de contaminación, y esto con independencia de la naturaleza de los contaminantes (químicos, bacterianos, o particulares).

Acciones para el tratamiento PREVENTIVO (Faucher, 1995):

a) Establecer barreras anticontaminación alrededor de la actividad protegida

Las "barreras anti-contaminación" son las barreras físicas, los procedimientos de gestión de acceso a las zonas críticas o de fabricación, barreras de aire para el personal y equipo, las paredes con transferencia limitada de contaminantes, los gradientes de presión entre salas, etc. Además, es útil aplicar algunos conceptos básicos que aparecen en el capítulo 3 de las NCF de la UE (NCF, 2014) tales como:

- Limitar el área expuesta a la contaminación: las piezas/partes del equipo que no se utilizan directamente en la fabricación se deben encontrar fuera de la zona crítica y situadas en la zona técnica (no en contacto con producto).
- Limitar la entrada de contaminantes a través de la creación de SAS (Security Airlock System) de personal.
- Elegir un revestimiento adecuado que facilite la limpieza y descontaminación de los locales.
- La creación de una sala limpia es también una barrera anticontaminación. Sin embargo, estas áreas requieren un tratamiento con aire (filtros, ventiladores, conductos, humidificadores, elementos de calefacción ...) que puede ser costoso. Además trabajar con gradientes de presión (más presión en zona limpia hacia menos presión en zona menos limpia) se usan para hacer frente con eficacia contra el trasiego de partículas entre zonas de diferente calidad de aire (Ver figura 3).

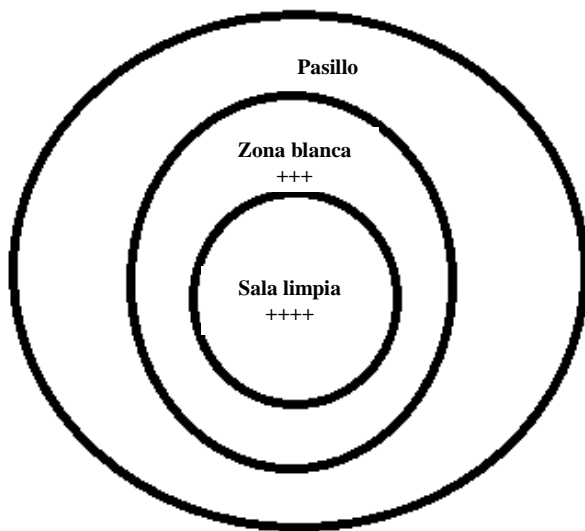


Figura 3: Barreras anticontaminación: Sobrepresión de salas (los signos +, ++, +++, indican sobrepresión entre las diferentes áreas)

b) Limitación de la generación de contaminantes por la propia actividad

Para limitar la generación de contaminantes relacionados con la actividad, es posible actuar sobre 5 factores: productos; instalaciones; métodos; personal y locales.

El capítulo 2 de la Guía de Buenas Prácticas de Fabricación de la Unión Europea (EU-GMP, 2013) menciona que el personal debe estar protegido de los productos fabricados. En este capítulo se tratan aspectos relacionados con la ropa de trabajo, la protección, la salud y la higiene de los operarios (el lavado de manos, máscaras de seguridad...). El personal debe estar formado y capacitado para llevar a cabo y prevenir la producción de contaminación y debe disponer de los medios suficientes para poder cumplir las normas.

Es necesario controlar y organizar el flujo de materiales y el flujo del personal de operaciones (ver figura 4) porque son vectores importantes de la contaminación.

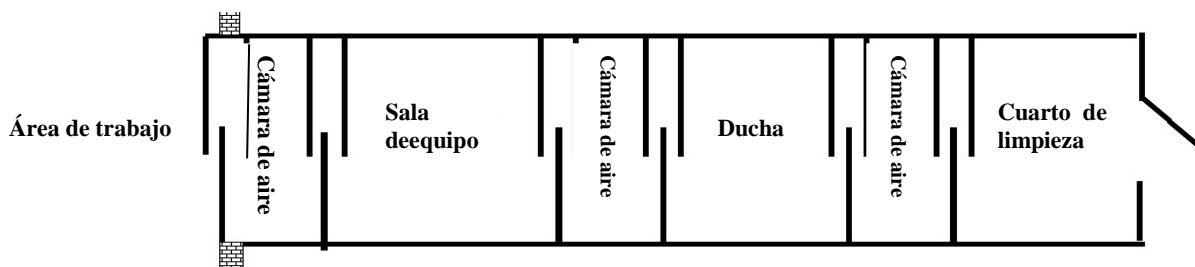


Figura 4: Ejemplo de un sistema de descontaminación del personal para entrar en un área limpia estéril (NYS Department of Labor).

El capítulo 3 trata sobre los equipos e instalaciones remarcando la importancia de su diseño y mantenimiento para evitar contaminaciones cruzadas.

2.4.2 Tratamiento CORRECTIVO

Las GMPs especifican que todos los elementos y materiales en contacto con los productos elaborados deben limpiarse para evitar la contaminación cruzada durante la producción, pero las alteraciones pueden ser causadas también por contaminación microbiana, con lo cual se deben establecer procedimientos para cada tipo de producto y para todo el material utilizado.

En todos los casos, las superficies de trabajo y equipos en contacto con los productos que se fabrican son fuentes potenciales de contaminación directa entre los productos y por lo tanto deben establecerse procedimientos de limpieza convenientemente validados.

3-Métodos de limpieza

3.1- Tipos de limpieza de los equipos industriales

Actualmente hay tendencia a reducir al mínimo la intervención humana durante la limpieza para superar la falta de reproducibilidad de la limpieza manual.

En la industria farmacéutica se utilizan tres tipos principales de limpieza: manual, semiautomática o totalmente automática (Cumplido, 2014), contando cada uno con sus ventajas y desventajas.

3.1.1- Limpieza manual

Este tipo de limpieza se puede definir como la aplicación de una acción mecánica por parte de un operario que usa herramientas y productos de limpieza para limpiar una superficie o equipo.

El resultado obtenido después de la limpieza, depende directamente de la correcta aplicación y el seguimiento estricto de los procedimientos de limpieza establecidos. El ajuste de los parámetros de control (presión, concentración, temperatura, tiempo...) es responsabilidad exclusiva del operario, por tanto, depende mucho de las habilidades del operario y de su formación.

La principal ventaja de este tipo de limpieza se dirige a las áreas críticas del material que son de difícil acceso con otros tipos de limpieza. El principal inconveniente es la falta de reproducibilidad del método.

3.1.2- Limpieza semiautomática

Este tipo de limpieza se puede definir como la secuencia de operaciones tanto manuales como automáticas. La limpieza se efectúa sin desmontar el equipo y la intervención del personal es

pequeña, pero importante para que funcione correctamente. Este tipo de limpieza se puede utilizar para equipos que no se pueden desmontar o desplazar.

3.1.3- Limpieza automática

Este tipo de limpieza no requiere la intervención humana. Está totalmente automatizada. Muy a menudo este tipo de limpieza no requiere un previo desmontaje de los equipos. Esto se logra ya sea por aspersión o por el movimiento de fluidos o disolventes. La secuencia de las operaciones se lleva a cabo bajo condiciones predeterminadas lo que asegura la reproducibilidad de la limpieza.

Aunque la intervención del operario se reduce al mínimo, es esencial supervisar el buen funcionamiento del sistema con el control de registros secuenciales. Existen dos tipos de limpieza automática, CIP (Clean In Place o limpieza in situ) y COP (Clean Out Place o limpieza fuera de lugar).

a) CIP

El sistema de *limpieza in situ* es un procedimiento de lavado automático, que utiliza soluciones químicas de limpieza recirculadas por bombas de alta presión (Cuben,2012). Este sistema de limpieza ofrece importantes ventajas para las instalaciones de fabricación, permite una limpieza eficaz y fiable de forma rápida y segura, mejorando la calidad del producto y el cumplimiento de las normativas sin necesidad de desmontar todo o partes de un equipo. El desarrollo y el diseño de un CIP es especialmente adecuado para equipos donde se fabrican líquidos o semisólidos. Este tipo de instalaciones de limpieza, sin embargo, son costosas y pueden no ser adecuadas para todos los equipos de producción.

Consiste básicamente en ciclos consecutivos de lavados utilizando: limpiadores alcalinos, ácidos o intermedios, desinfectantes, seguido de un enjuagado con agua purificada.

Existen dos tipos de sistemas CIP: (Ver figura 5)

- Sistema simple: la solución de limpieza se introduce en el sistema, terminado el proceso se descarga y por último se enjuaga.
- Sistema de recirculación: este sistema de limpieza implica la preparación de la solución de limpieza en un tanque externo, debido a que la solución recircula hasta que los ciclos de limpieza hayan finalizado.

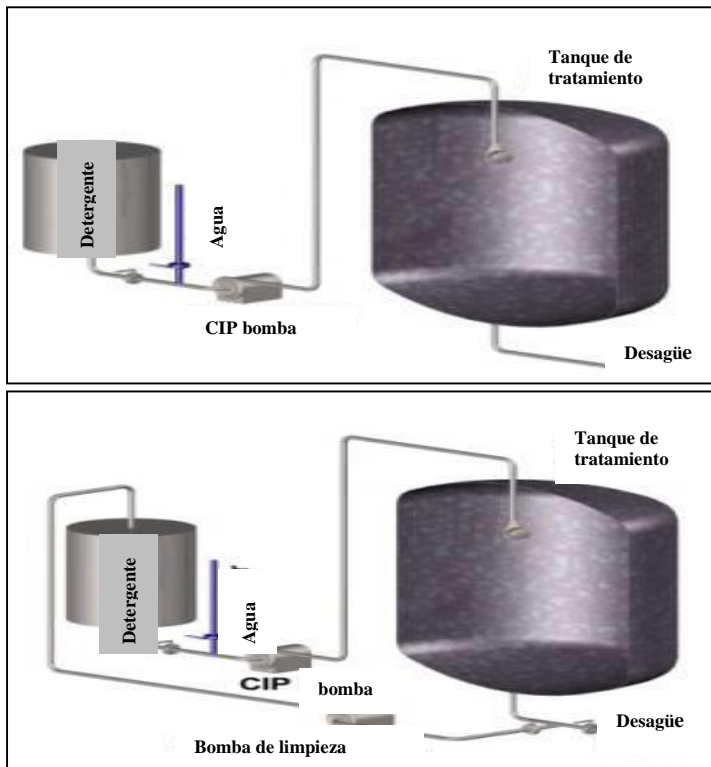


Figura 5: Ejemplos de un sistema CIP, simple y de recirculación (Lenntech, 2014).

b) COP

Es un sistema automático o semi-automático de limpieza que consiste en sacar los elementos de un equipo y llevarlos a cuartos de lavado en donde un tanque lleva a cabo la limpieza de estas partes por ciclos, utilizando diferentes agentes de limpieza (detergentes y desinfectantes) a presión y a una temperatura determinada. Ver figura 6.



Figura 6: Ejemplo de sistema farmacéutico de COP, lavado por inmersión de piezas (Sani-Matic, Inc2012).

3.2- Procesos de limpieza

En la tabla 1, se listan los pasos a seguir para llevar a cabo los dos tipos de limpieza: manual y automática o CIP.

Proceso de Limpieza manual	Proceso de limpieza CIP
<ul style="list-style-type: none">- Desmontar las piezas del equipo- Pre-lavado de las piezas con agua de red*- Lavar las piezas pre-lavadas con la solución de limpieza- Enjuagar las piezas con agua de red*- Enjuagar con agua purificada- Secar las partes con aire caliente- Inspección visual para comprobar si el equipo está limpio- Volver a montar las piezas	<ul style="list-style-type: none">- Pre-lavado con agua de red*- Lavado con solución de limpieza- Soplado con aire comprimido- Enjuagar con agua de red*- Enjuague final con agua purificada- Soplado con aire comprimido- Secado con calor y aire comprimido

*agua del grifo de red urbana sin tratamiento en el laboratorio

Tabla 1: Etapas de procesos de limpieza (Robin, 2004).

En todos los casos debe demostrarse que el procedimiento de limpieza es eficaz, consistente y reproducible, con lo cual será necesario validarlo.

La FDA (marzo, 1998) recomienda el uso de CIP para limpiar equipos y tanques de almacenamiento con el fin de reproducir exactamente el mismo procedimiento cada vez. La limpieza manual es más variable que los procesos automatizados con lo cual se deben incluir más detalles al escribir los PNT y realizar una rigurosa formación del personal.

3.3- Los mecanismos de limpieza

En las operaciones de limpieza, el resultado final depende de cuatro factores interrelacionados, agrupados en el Círculo de Sinner (figura 7).

1- Acción mecánica: Se refiere a la eliminación de residuos y contaminantes a través de acciones físicas, como el cepillado, lavado y el uso de agua a presión.

2- Acción química: La acción del agente de limpieza. La elección del método y del producto a utilizar depende de la naturaleza de la suciedad y la superficie a limpiar. Son reacciones químicas de oxidación e hidrólisis que rompen los residuos orgánicos y los contaminantes para que sean fácilmente extraíbles de las superficies.

3- Temperatura del agua: desempeña un papel importante en la eficacia de los detergentes porque maximiza su eficacia, por eso se tiene que respetar la temperatura recomendada por el fabricante.

4-Tiempo de acción o de contacto: es el tiempo requerido para que el detergente reaccione con la suciedad con el fin de eliminarla.

Si uno de los factores se reduce, se debe compensar mediante el aumento de uno o más de los otros factores.



Figura 7: Círculo de Sinner (Anaisreig, 2011)

Estos factores intervienen de forma diferente en caso de tratarse de un procedimiento manual o automático (Tabla 2).

Parámetros	Limpieza manual	Limpieza automática
<u>Tiempo</u>	- Tiempo corto - Tiempo entre las diferentes etapas puede variar mucho	- Tiempo relativamente elevado - Tiempo entre las diferentes etapas bien controlado
<u>Acción mecánica</u>	- Fuerza relativamente elevada - Muy difícil de cuantificar - No uniforme	- Fuerza relativamente baja - Difícil de cuantificar - Uniforme
<u>Concentración del detergente</u>	- Bajas concentraciones - Detergente con baja toxicidad	- Alta concentración y composición química exacta - Débilmente espumoso
<u>Temperatura</u>	- Temperatura baja - Variaciones con las condiciones ambientales	- Temperatura elevada - Mejor control de las condiciones a aplicar: presión, temperatura.

Tabla 2: Comparación de los diferentes tipos de limpieza (Bailly, 2004).

3.4- Tipos de métodos de limpieza según la frecuencia del lavado

Se pueden definir tres tipos y su implicación para la validación será diferente:

- Métodos de limpieza radical o no serial: elimina residuos de forma exhaustiva → se deben validar de forma completa.
- Métodos de limpieza ordinarios, seriales o parciales: utilizados típicamente tras la fabricación consecutiva de lotes del mismo producto → no se validan o son objeto de una validación reducida.
- Los métodos de limpieza de repaso o tras inactividad (período superior al período de validez) → validación reducida centrada en el control microbiológico.

3.5- Equipos dedicados a un producto y equipos polivalentes

3.5.1- Equipos dedicados a un producto

Son instalaciones especializadas y dedicadas a la fabricación de un medicamento o un solo tipo de medicamento (mismo principio activo con diferentes concentraciones, APIs muy similares y de la misma familia terapéutica), se requiere este tipo de instalaciones en el caso de los APIs tóxicos o alérgicos que tienen unos límites de aceptación muy bajos y exigen unas condiciones de limpieza muy extremas.

3.5.2- Equipos polivalentes

Son equipos de uso general, no específicos a un determinado producto. El API fabricado sucesivamente en el mismo equipo cada vez es diferente, lo que implica el uso de procesos de limpieza eficientes para evitar todo riesgo de contaminación cruzada.

3.6- Salas limpias o blancas

En el sector farmacéutico, el concepto de sala limpia surge de la necesidad de disponer de un área en la que se lleva a cabo el procesado de productos farmacéuticos de manera que pueda garantizarse que el producto obtenido se encuentra dentro de las especificaciones de esterilidad requerida.

3.6.1- Definición de sala limpia o blanca

Las salas limpias, blancas o *clean rooms*, son áreas que permiten un control estricto de parámetros ambientales como partículas en aire, temperatura, humedad, flujo de aire, presión interior de aire, etc., de modo que queda reducida la introducción, producción, generación y retención de contaminantes en dichas zonas.

La norma ISO 14644-1(ISO, 1999): (Salas limpias y locales anexos Parte 1: Clasificación de la limpieza del aire), define la sala limpia como: *Local en el que se controla la concentración de partículas contenidas en el aire y que además su construcción y utilización se realiza de forma que el número de partículas introducidas o generadas y existentes en el interior del local sea lo menor posible y en la que además se puedan controlar otros parámetros importantes como: temperatura, humedad y presión.*”

El concepto de sala limpia incluye la propia área en el que se llevan a cabo las operaciones, el sistema de climatización, que aporta y controla el aire de dicha área, y el personal que interviene en los procesos que se realizan.

3.6.2- Categorías de las salas limpias o blancas

Las salas limpias se clasifican en función del número y el tamaño de las partículas permitidas por volumen de aire.

La norma ISO 14644 (Salas blancas y ambientes controlados Parte 1: Clasificación de la pureza del aire) fue la primera norma preparada por el comité técnico de la organización ISO (ISO/TC 209).

El ISO 14644-1 cubre la clasificación de la pureza del aire en salas limpias y ambientes controlados. La clasificación de conformidad con esta norma se especifica y realiza exclusivamente en términos de concentración de partículas en el aire. Además, el único grupo

de partículas que se tiene en cuenta a la hora del conteo son partículas de tamaño entre 0,1 μm y 5 μm .

En la siguiente tabla (Tabla 3) aparece la clasificación en función del tamaño y la cantidad de partículas.

Partículas por metro cúbico de aire						
	0,1 μm	0,2 μm	0,3 μm	0,5 μm	1 μm	5 μm
ISO 1	10	2				
ISO 2	100	24	10	4		
ISO 3	1000	237	102	35	8	
ISO 4	10000	2370	1020	352	83	
ISO 5	100000	23700	10200	3520	832	29
ISO 6	1000000	237000	102000	35200	8320	293
ISO 7				352000	83200	2930
ISO 8				3520000	832000	29300
ISO 9				35200000	8320000	293000

Tabla 3: Clasificación ISO de las salas blancas y zonas limpias en función del tamaño y la cantidad de partículas (ISO 14644-1).

Las normas de correcta fabricación de medicamentos de la Unión Europea (GMP) clasifican las zonas limpias en grados A, B, C, y D en función del número de partículas permitidas, e introducen la noción de contaminación bacteriológica del aire que no está presente en otras normas. (Ver Tablas 4 y 5)

Zonas	Número máximo permitido de partículas por m^3			
	En reposo		En actividad	
	<0.5 μm	$\geq 5 \mu\text{m}$	<0.5 μm	$\geq 5 \mu\text{m}$
A	3 520	20	3 520	20
B	3 520	29	352 000	2 900
C	352 000	2 900	3 520 000	29 000
D	3 520 000	29 000	-	-

Tabla 4: Clasificaciones de las GMPs establecidas para el estudio de áreas limpias (Anexo 1, 2008).

Zonas	Muestra de aire ufc [*] /m ³	Placas de Petri (90mm de diámetro), ufc [*] / 4 horas	Placas de contacto (55 mm de diámetro), ufc [*] / placa	Impresión de guantes (5 dedos), ufc [*] /guante
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

*Unidades formadoras de colonias

Tabla 5: Contaminación microbiana: Límites recomendados en actividad según las GMPs de la Unión Europea (Anexo 1, 2008).

3.6.3- Características de las zonas limpias

En general, este tipo de locales deben diseñarse, construirse, utilizarse y mantenerse de forma adecuada y conveniente a las operaciones que se realicen en ellos. Las superficies interiores de los componentes constructivos (paredes, techos y suelos, puertas...) deben ser lisas, sin grietas ni fisuras. No deben liberar partículas ni servir como soporte al crecimiento microbiológico y su limpieza tiene que poder realizarse de forma fácil y efectiva y, en caso necesario, ser aptas para su desinfección. Estas salas deben ventilarse de forma eficaz con instalaciones de control del aire adecuadas a los productos manipulados, a las operaciones realizadas y al medio ambiente exterior.

Según el capítulo 3 de las normas GMP de la U.E:

- Su disposición y diseño deben tender a minimizar el riesgo de errores.
- Su construcción (selección de materiales/acabados) debe permitir una limpieza y mantenimiento efectivo para evitar la contaminación cruzada, la acumulación de polvo o suciedad y, en general cualquier efecto negativo sobre la calidad de los productos.
- Por último, su utilización y mantenimiento debe basarse en un protocolo de buenas prácticas y estar acorde con el tipo de área y operación que se realiza en ella.

3.6.4- El sistema de aire

La clasificación de cada área limpia está determinada por el sistema de aire, como ya se ha comentado anteriormente, es la herramienta principal para alcanzar los diferentes niveles de protección. Un ejemplo de producción de aire farmacéutico se esquematiza en la figura 8:

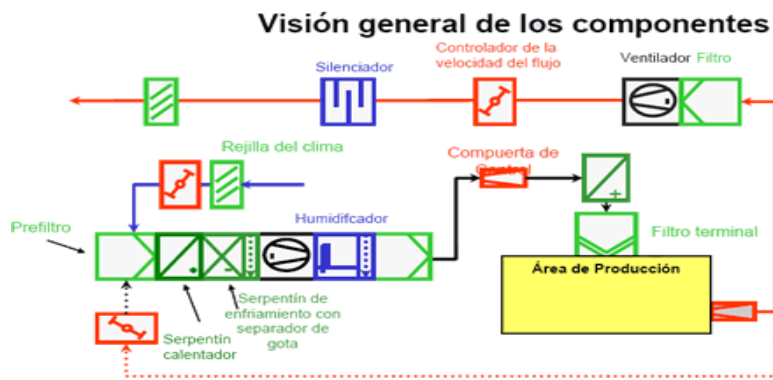


Figura 8: Componentes del sistema de producción de aire farmacéutico (Quiminet, 2006).

El diseño es fundamental para lograr las condiciones de higiene en cada área limpia, ya que puede existir un perfil unidireccional o turbulento. La elección del perfil del aire va a depender de las operaciones a realizarse dentro del área o forma farmacéutica a elaborarse y del aspecto económico (Quiminet, 2006). (Ver figura 9).

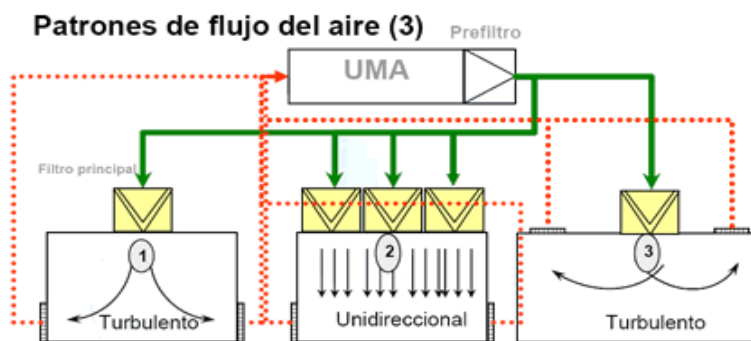


Figura 9: Patrones de flujo del aire (Quiminet, 2006).

Este sistema requiere un esfuerzo consistente y prolongado como parte de la garantía de calidad de los fabricantes de medicamentos por lo cual debe ser complementado por la calificación de los sistemas de aire, validación del proceso, mantenimiento, recalificación periódica y documentación adecuada.

Se cita a continuación algunos puntos adicionales que son útiles para el control del sistema de aire:

- Número de partículas en el aire.
- Número de microorganismos en el aire o sobre las superficies.
- Número de cambios de aire para cada área (renovación).
- Velocidad del aire.
- Patrón de flujo del aire.
- Filtros (tipo, posición).
- Diferenciales de presión de aire entre áreas.
- Temperatura, humedad.
- Capacitación del personal involucrado.
- Validación de limpieza de áreas y equipos.
- Procedimientos de entrada y salida de material y personal adecuados a la logística empleada por la empresa.

4- Detergentes y limpieza

Los detergentes son combinaciones de compuestos químicos que pueden eliminar la suciedad, la mayoría de los cuales se basan en dos categorías de productos: (ver figura 10)

- Categoría 1: Compuesta por (80% - 95%) de detergente alcalino y (5% - 20%) de tensioactivo, dispersante, quelante, enzimas, etc.

- Categoría 2: Compuesta por (80% - 95%) de detergente ácido y (5% - 20%) de tensioactivo, dispersante, quelante, enzimas, etc.

En la mayoría de los casos, los procedimientos de limpieza incluyen uno o más detergentes para obtener una superficie limpia.

Los detergentes a utilizar deben cumplir dos características: Ser solubles en agua y no ser tóxicos.

El detergente actúa como agente humectante, solubilizante, emulsificante y dispersante en la eliminación de los residuos y contaminantes.

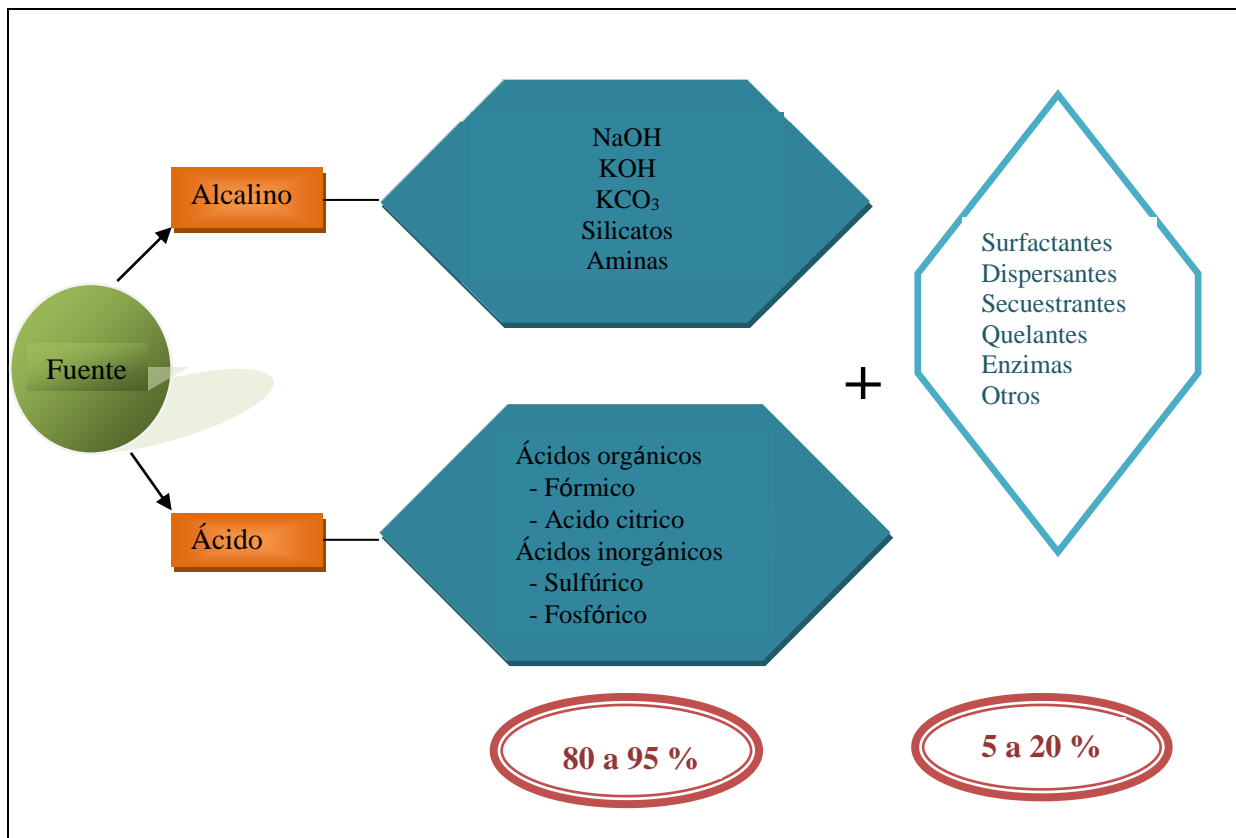


Figura 10: Composición de los detergentes (Kluger, 1981).

4.1- Clasificación de detergentes

Hay dos tipos principales de detergentes:

4.1.1- Detergentes alcalinos

Detergentes de pH superior a (7,0), actúan mediante la solubilización y desagregación de la suciedad. El ambiente alcalino permite la formación de aniones a partir de los residuos de grasa. Cuánto más elevado sea el pH del detergente, mayor será su efecto desengrasante. Se utilizan para la eliminación de proteínas, grasas, excipientes inertes y sales ácidas.

4.1.2- Detergentes ácidos

Detergentes de pH inferior a (7,0), utilizados para eliminar sales alcalinas, alcaloides, azúcares y sales calcáreas. Se utilizan para extraer depósitos minerales residuales o después de una etapa de lavado con un detergente alcalino para la neutralización.

La propiedad de los detergentes ácidos se nota en que limpian con rapidez, dejan el área o superficie como si fuera nueva sin rastro ni mancha. La forma de utilizar este tipo de detergente es muy específica y especial. (Horabuenablogspot, 2011)

4.1.3- Otros tipos de detergentes

Neutros: pH (6,5-7,5) contienen mezclas de agentes humectantes y polifosfatos. Tienen muy poco poder disolvente, de uso frecuente en las limpiezas manuales.

Desinfectantes: tienen doble acción, son detergente y desinfectante a la vez. Se aplican sobre superficies para eliminar los microorganismos. Su tiempo de acción es inmediato. Se recomienda no utilizar siempre el mismo desinfectante para evitar el desarrollo de resistencia bacteriana. Sus ventajas y desventajas se listan en la tabla 6.

	Detergentes ácidos	Detergentes alcalinos
<u>Características</u>	- Los residuos inorgánicos son más solubles en detergentes ácidos. - Funcionan bien cuando se mezclan diferentes ácidos.	- Los residuos orgánicos se vuelven solubles en agua a través del cambio de la naturaleza química/física de los residuos orgánicos. - La mezcla de otros componentes de limpieza con un detergente alcalino aumenta los efectos de la limpieza: EDTA, polifosfato citrato.
<u>Desventajas</u>	- Corrosión del equipo - Menos compatibles con otros productos de limpieza	- Precipitación (dureza del agua) - No hay efecto de limpieza con los residuos minerales. Sí con residuos orgánicos. - Depende mucho de la concentración

Tabla 6: Características de detergentes (Kim, 2006)

4.2- Elección de un detergente

La elección del detergente es crítica y determina el resultado del método de limpieza.

Para elegir el detergente óptimo se deben evaluar varios criterios (Laban, 1999):

1. La naturaleza (orgánica o inorgánica).
2. El estado de la suciedad (húmedo o seco), según estos criterios se elige el detergente adecuado (Ver figura 11).

3. La naturaleza de la superficie a la que se aplique, ya que mantener la integridad de la superficie es un factor crítico.
4. La calidad del agua disponible (dureza).
5. La toxicidad. El detergente debe ser el menos tóxico posible para el personal y el medio ambiente.
6. Y, por último, un buen detergente debe ser eficaz, estable a altas temperaturas, fácil de eliminar y cuantificable a bajas concentraciones. Este parámetro es imprescindible en el caso de la validación de la limpieza.

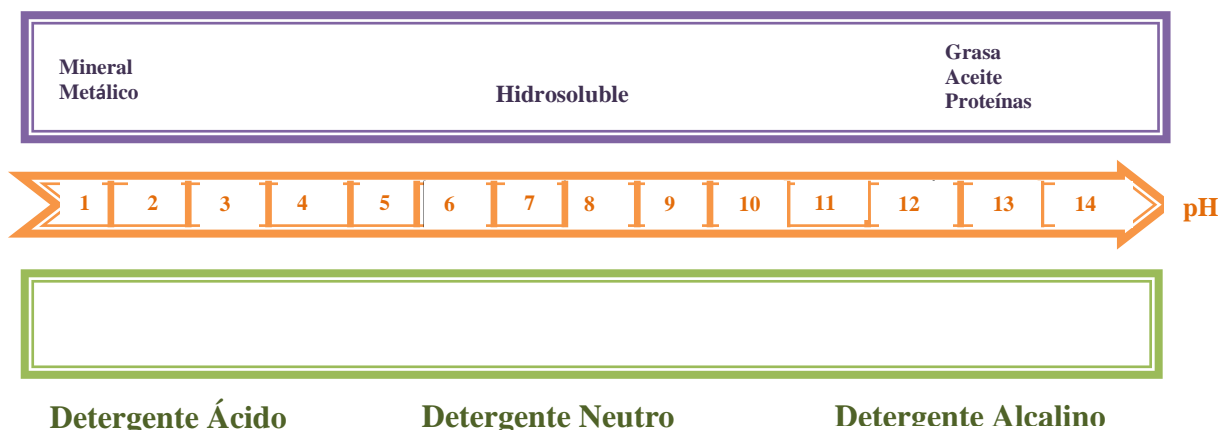


Figura 11: Figura representativa para la elección de un detergente (Laban, 1997).

Los detergentes se añaden al agua para potenciar las cuatro propiedades (Kluger, 1981):

- Mojar: efecto de disminuir la tensión superficial, penetrante.
- Solubilizar: los residuos solubles en agua.
- Emulsionar: eliminar las grasas.
- Dispersar: reducir los sólidos en suspensión (polvo, fibras..).

En la figura 12, se puede ver una gráfica en que se muestra la capacidad de limpieza de tres tipos de detergentes: agente de limpieza simple, agente tensioactivo y coadyuvante, frente al tiempo estimado de limpieza. Se puede observar que es con la combinación de los 3 tipos con la que se obtiene la mejor eficiencia (>60 %). (Kim, 2006).

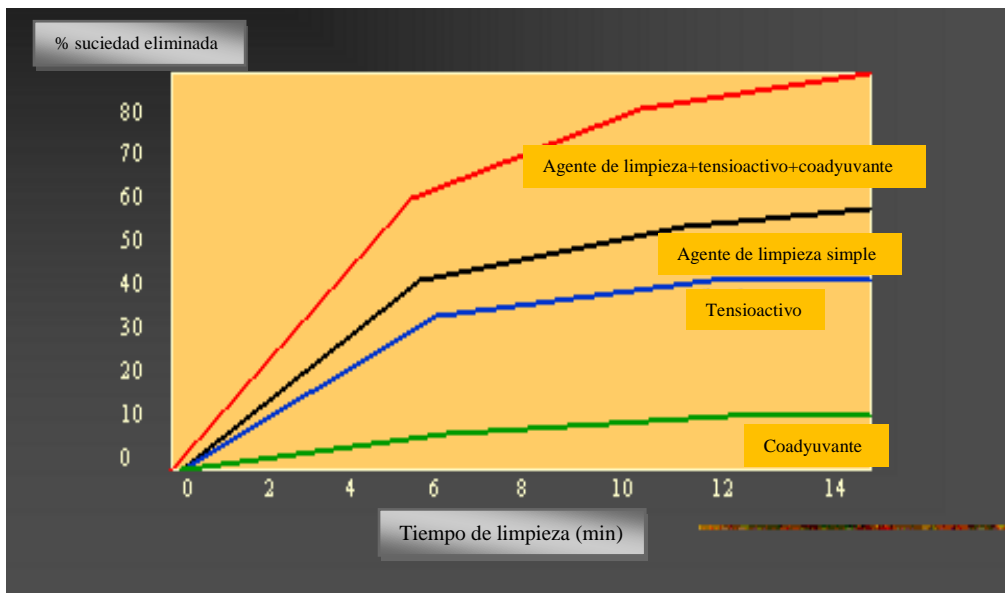


Figura 12: Capacidad de limpieza de los tres tipos de detergentes (Kim, 2006)

El uso de detergentes en la industria farmacéutica, sin embargo, también presenta desventajas:

- Son fuente de contaminación
- Generan costes adicionales
- Pueden ser una fuente de toxicidad para los operarios y el medio ambiente.

Por lo tanto, los detergentes se deben utilizar sólo cuando sea estrictamente necesario.

Por otra parte, el detergente tiene que tener una ficha técnica, donde se indica todas sus características químicas, toxicológicas y de seguridad. Esta ficha puede adjuntarse a los procedimientos de limpieza para poder consultarla fácilmente.

5 - Validación de los procedimientos de limpieza

La validación es un requisito reglamentario, como se ha visto antes, pero también debe ser un requisito de la propia industria, ya que es una perspectiva de calidad, seguridad y un mejor control y comprensión de los procesos.

Jenkins y Vanderwielen (1994) presentaron por primera vez una visión general de la validación de la limpieza, que abarcaba la estrategia, la determinación de límites de residuos, métodos de muestreo y análisis. El mayor uso de equipos multiuso, había aumentado la necesidad en la validación de la limpieza.

5.1- Tipos de validación

Hay tres tipos principales de validación (NCF, 2001; FDA, 1998 ; ICH Q7, 2000):

- Prospectiva.
- Concurrente.
- Retrospectiva o reiterada (revalidación).

5.1.1- Validación prospectiva

La validación prospectiva se aplica antes de la distribución de un producto nuevo, o producto elaborado bajo un proceso de fabricación validado. Se hace antes de una fabricación industrial convencional. Se lleva a cabo durante la etapa de desarrollo y es el resultado de un análisis de riesgo en el proceso productivo (CEMED, 1994).

También puede realizarse cuando se prevé efectuar cambios en el proceso de fabricación que pueden afectar a las características del producto.

Según las GMPs y ICH Q7, la validación prospectiva necesita en general tres lotes consecutivos con resultados aceptables (aplica también a la validación concurrente) y en algunos casos se puede necesitar lotes o repeticiones de proceso adicionales (por ejemplo, para procesos complejos o extensos).

5.1.2- Validación concurrente

La validación concurrente es la forma de validación que se lleva a cabo durante la producción normal (CEMED, 1994). El producto es validado mientras está en producción.

Esta validación es excepcional y sólo se hace con la decisión justificada, documentada, aprobada del personal autorizado (Anexo 15 (NCF), 2001 y ICH Q7). Requiere aprobación previa por autoridades sanitarias.

La validación concurrente, puede efectuarse:

- Cuando todos los datos y parámetros de producción no están disponibles debido a que se produce un número limitado de lotes.
- Cuando los lotes de los principios activos o fármacos se producen con poca frecuencia, o cuando el ingrediente activo es producido a partir de un proceso validado pero modificado. (CEMED, 1994).

5.1.3- Validación retrospectiva o reiterada (revalidación)

La validación retrospectiva consiste en establecer una evidencia documentada de la idoneidad de un producto o proceso basándose en la evaluación de los datos históricos acumulados existentes (Caro, 1996).

Esta validación se realiza cuando los procesos se utilizan sin cambios significativos y cuando se dispone de los resultados del control de proceso y del producto final y de limpieza. (CEMED, 1994).

La validación retrospectiva se basará en datos históricos. Sus fases incluirán la preparación de un protocolo de validación específico y el registro de los resultados de la revisión de los datos, de los que se extraerá una conclusión y una recomendación (NCF, 2001(Anexo 15)). No obstante es muy difícil hacer esta validación para un procedimiento de limpieza ya que no se analiza residuos indicadores como serían los detergentes o productos de degradación.

5.2- Sistema documental

El proceso de limpieza debe ser suficientemente robusto para lograr un alto grado de fiabilidad de la reducción de los residuos a un nivel aceptable. Cuando los resultados son aceptables se desarrolla un protocolo de validación y se realiza el número requerido de ciclos (normalmente tres consecutivos). Cuando se cumplen todos los ciclos, el informe de validación se aprueba y el proceso de limpieza se considera validado.

5.2.1- Protocolo de validación

El protocolo de validación es un documento escrito, que indica cómo se realizará la validación, incluyendo parámetros de prueba, características de producto, descripción del equipo que será limpiado, niveles de limpieza aceptables, métodos analíticos empleados y puntos de decisión en lo que constituye un resultado de prueba aceptable. El protocolo indicará, además, el tipo de muestra que será obtenida y cómo será recogida y etiquetada.

El protocolo de validación debe escribirse y aprobarse previamente a la realización experimental de la validación.

Las partes que comprende este documento son:

- a) Objetivo
- b) Responsabilidad
- c) Consideraciones previas
- d) Procedimiento

- Descripción del procedimiento de limpieza
- Ficha de limpieza/verificación (check list)
- Cálculo de la superficie del equipo: ficha de la validación de limpieza
- Contaminante a monitorizar
- Especialidades que pasarán por el equipo
- Cálculo de los criterios y determinación del límite de aceptación
- Procedimiento analítico
- Ficha de muestreo

5.2.2- Informe de validación

El informe de validación resume y presenta todos los protocolos y resultados, así como las conclusiones relacionadas con el estado de validación del proceso. Debe ser firmado por el operario, verificado por producción y revisado por garantía de calidad junto con los datos de los resultados originales.

El informe debe incluir para cada ciclo de validación lo siguiente:

- Fecha de inicio del estudio
- Fecha de finalización
- Observaciones efectuadas
- Problemas encontrados
- Integridad de la información recogida
- Resumen del informe de desviaciones de las pruebas
- Los análisis estadísticos
- Concordancia de los resultados con los criterios de aceptación
- Ubicación de los datos originales
- Otra información pertinente del estudio

Se formulan las conclusiones con respecto a la validez del proceso en cada ciclo individual y en los tres ciclos consecutivos de validación.

Los resultados son evaluados, analizados y comparados con los criterios de aceptación definidos en el protocolo. Dichos criterios deben cumplirse para considerar aprobado el estudio realizado (CEMED, 2006).

5.3- Etapas de validación

Para la preparación de la validación de limpieza los expertos aconsejan hacer tres etapas (FDA news 2007):

- Preparar el CVMP (Plan maestro de validación de limpieza)
- Calificar los equipos
- Validar los métodos analíticos

5.3.1- Preparar el CVMP

a) Plan maestro de validación de limpieza

Es un documento general que da una visión global del proyecto de validación en la empresa, recoge los criterios de validación, asigna responsabilidades y organiza todas las actividades de la empresa susceptibles de ser validadas:

- Calibración de aparatos de medida;
- Cualificación de máquinas y aparatos de laboratorio;
- Validación de sistemas de agua, vapor, aire, aire comprimido;
- Validación sistemas informáticos;
- Validación métodos analíticos;
- Validación procesos de limpieza y de fabricación.

Ha de consensarse y ser comprendido por todas las personas de la organización implicadas en las tareas de validación (Salazar, 2007).

Los cinco componentes importantes del CVMP, son los siguientes:

- Objetivo
- Alcance: las diferentes áreas que cubre el plan maestro de validación de limpieza
- Responsabilidades: Asignar para cada etapa un responsable para la preparación, verificación, aprobar documentos, muestrear, analizar y aprobar los resultados
- Gestión de riesgo, debe contener:
 - Criterio de aceptación
 - Procedimiento que determina si el equipo está fuera de especificación
 - Los agentes de limpieza que se van a utilizar
 - PNT que se va a utilizar
 - El método de muestreo utilizado
 - Escenario del peor caso
 - Controles en-proceso que se van a efectuar después de la limpieza

- Metodología:
 - Ejecución del programa de validación de limpieza
 - Mantenimiento del programa
 - Revalidación

b) Componentes del CVMP

a - Objetivo:

El objetivo tiene una gran importancia, según los expertos debe ser específico con objetivos alcanzables para todos los departamentos implicados en el plan.

b –Alcance:

El alcance del proyecto de validación de limpieza incluye las diferentes áreas que cubre el proyecto.

c –Responsabilidad:

Es la parte más importante del CVMP, ya que especifica con detalle quién se encarga de cada tarea. Cada etapa del proyecto tiene una persona responsable (recuperación, verificación, muestreo, análisis, aprobación de los resultados de análisis,..etc.)

Algunas empresas prefieren las responsabilidades individuales en las actividades relacionadas con la validación de limpieza.

d- Gestión de riesgo

Se utiliza en varias industrias para entender y (dominar) mejor los procesos, el control de proceso y para aumentar la calidad del producto.

Con el uso de la gestión de riesgo como herramienta en la validación de limpieza, el fabricante demuestra la eficacia y la sostenibilidad de su programa de validación de limpieza, así como el seguimiento de sus procesos de fabricación.

e –Metodología

El plan maestro de validación de limpieza debe contener la metodología específica de validación.

5.3.2- Cualificación de los equipos

Las GMPs describen la necesidad de conocer y manejar correctamente los equipos que se utilizan en la elaboración y análisis de los medicamentos. Esto implica que rutinariamente sean calibrados, inspeccionados o verificados de acuerdo con un programa escrito, diseñado para asegurar un rendimiento adecuado (Heron, 2013).

Dentro de las verificaciones y ensayos que se realizan en los equipos se encuentran la Cualificación de Diseño (DQ – Instalation Design), la Cualificación de Instalación (IQ – Instalation Qualification), Cualificación de Operación (OQ – Operation Qualification) y Cualificación del Desempeño o de Proceso (PQ – Performance Qualification) que tienen como objetivo generar una evidencia documental objetiva y mostrar las condiciones de instalación, operación y desempeño del equipo (Heron, 2013).

a) Definiciones

Según las ICH Q7 (ICH Q7, 2000) y Anexo 15 (NCF, 2001):

- Cualificación de Diseño (DQ): verificación documentada de que el diseño propuesto para las instalaciones, equipo o sistema es adecuado para el propósito intencionado.
- Cualificación de Instalación (IQ): verificación documentada de que el equipo o sistemas instalados o modificados, cumplen con el diseño aprobado, las recomendaciones del fabricante y/o los requerimientos del usuario. Es una calificación inicial del equipo usado y la disposición de los servicios necesarios.
- Cualificación Operacional (OQ): verificación documentada de que el equipo o sistemas, instalados o modificados, ejecutan como estaba previsto el proceso a través de los rangos de operación anticipados. Una demostración de que el proceso producirá resultados aceptables y establecerá límites (en el peor de los casos) de los parámetros del proceso.
- Cualificación de Desempeño (PQ): verificación documentada de que el equipo y los sistemas auxiliares, al conectarlos, pueden ejecutar de manera efectiva y reproducible el proceso cumpliendo las especificaciones. Es el establecimiento de la estabilidad del proceso a largo plazo.

Para todas las fases, IQ, OQ y PQ se tiene que:

- Determinar qué se debe verificar / medir
- Determinar cómo se debe verificar / medir
- Determinar cuánto se debe verificar / medir, es decir significancia estadística
- Determinar cuándo verificar / medir
- Definir los criterios de aceptación / rechazo
- Definir la documentación requerida

En la tabla 7 se muestra un resumen de las cuatro fases de cualificación de los equipos y en la figura 13 un esquema representa la secuencia entre las fases.

<u>FASES DE LA CUALIFICACIÓN</u>	<u>CONSIDERACIONES PRÁCTICAS</u>	<u>PRUEBAS</u>	<u>DOCUMENTACIÓN</u>
DQ (CUALIFICACIÓN DE DISEÑO)	Acordar con el proveedor las condiciones, modificaciones, reservar la documentación relacionada	Verificar documentalmente que el sistema corresponde a las exigencias definidas y que los elementos críticos se han tenido en cuenta	- Especificaciones técnicas del usuario - Documentos Técnicos del equipo: proporcionados por el proveedor (planos,) - Manuales Técnicos: mantenimiento, utilización, limpieza
IQ (CUALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN)	Identificar que los elementos críticos previstos se han instalado	Controles estadísticos según proveedor (pruebas etc.) Controles estáticos: equipos, partes Control de calibración	- Redacción de los Procedimientos Normalizados de Trabajo: PNTs mantenimiento, utilización, limpieza - Planos, Fichas Técnicas - PNTs control de equipo - PNTs calibración - PNTs cambios
OQ (CUALIFICACIÓN DE OPERACIÓN)	Controlar funciones críticas: velocidad, temperatura, capacidad	Controles estáticos de los componentes sin producto ni placebo Controles dinámicos con placebo	- Manual de operación - Procedimiento de puesta en servicio - Guía de Fabricación (para placebo) - PNTs relacionados
PQ (CUALIFICACIÓN DE PRESTACIÓN)	Controlar que el equipo funciona con nuestro procedimiento de trabajo, producto y que cumple las especificaciones	Controles dinámicos con producto	- Guía de Fabricación (para producto) - PNTs relacionados

Tabla 7: Resumen de las fases de la cualificación de equipos (García Montoya, 2001)

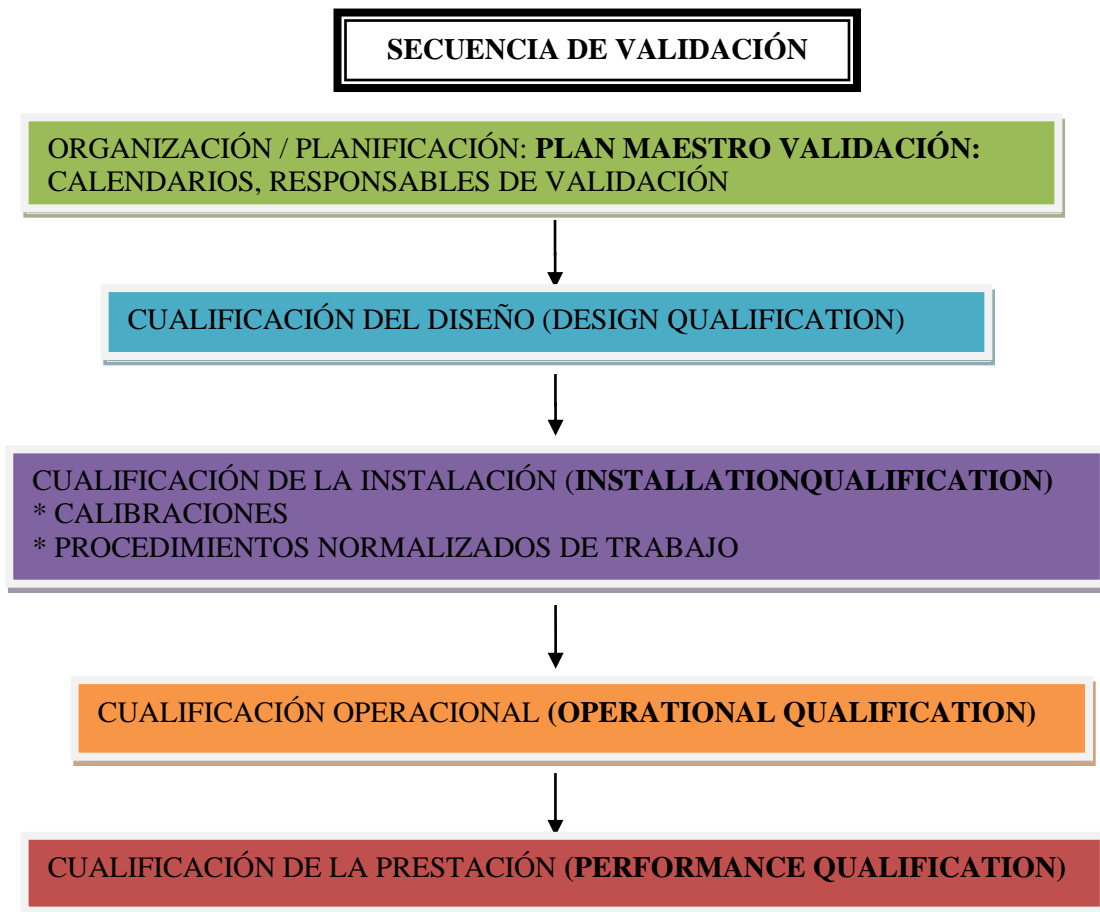


Figura 13: Secuencia de validación/cualificación de un producto (García Montoya, 2001)

5.3.3 - Calcular los criterios y límite de aceptación

Los límites de aceptación se establecen en función de una serie de factores como la dosis terapéutica del principio activo, la toxicidad, el tamaño de lote, etc.

Si tras fabricar un producto A, se efectúa la limpieza y se fabrica el producto B, la cantidad límite de contaminante (API, excipientes, detergentes, etc.) que se transfiere al producto B viene determinada en base a uno o más de los criterios de aceptación descritos a continuación. Normalmente los límites de residuos se calculan en base a todos los criterios y se selecciona el más bajo de ellos como límite a aplicar. (Salazar, 2007)

A continuación, se describe como se calculan los límites según: límite relacionado con la dosis, límite relacionado con la adulteración, límite según el criterio organoléptico, límite relacionado con el umbral de preocupación toxicológica (TTC) y límite relacionado con el PDE exposición diaria aceptable.

a) *Límite relacionado con la dosis (dosis terapéutica)*

Establece que no más de una parte de la dosis dividida por un factor de seguridad (SF) de cualquier producto puede aparecer en la dosis diaria máxima del producto fabricado a continuación.

SF es el factor de seguridad, y es variable en función de la forma de dosificación del medicamento (ver tabla 8).

Forma de dosificación	Factor de seguridad (SF)
Compuestos de investigación	10.000 – 100.000
Productos parentales oftálmicos	1.000 – 10.000
Formas sólidas	100 – 1.000
Productos tópicos no oftálmicos	10 - 100

Tabla 8: Factor de seguridad dependiendo de la vía de administración (Salazar, 2007)

Este límite se puede expresar de varias maneras:

Límite en el producto siguiente expresado en ppm ($\mu\text{g/g}$):

$$L1(\text{ppm}) = 1/\text{SF} \times d/D$$

d = dosis terapéutica mínima diaria ($\mu\text{g/día}$) del API contaminante (analito de A)

D = dosis terapéutica máxima diaria (g/día) del producto B fabricado a continuación (medicamento completo, API con excipientes)

SF = Factor de seguridad (ver tabla 8)

Límite en el control de superficies o bien en disolventes de lavado:

$$\text{Superficie: } L2 (\mu\text{g/cm}^2) = L1 (\text{ppm}) \times T_{\text{min}}/S \times 1000$$

T_{min} = tamaño de lote mínimo de B en peso (Kg)

S = superficie total de contacto con el equipo o cadena de equipos (cm^2)

$$\text{Disolventes de lavado: } L2 (\mu\text{g/ml}) = L1 (\text{ppm}) \times T_{\text{min}}/V$$

T_{min} = tamaño de lote mínimo de B en volumen (L) o en peso (Kg)

V = volumen de agua o disolvente utilizado (L)

Límite en la muestra a analizar:

$$\text{Superficie: } L3 (\text{ppm}) = L2 (\mu\text{g/cm}^2) \times \text{SM}/\text{VE} \times \text{FR}$$

SM = superficie muestreada (cm^2)

VE = volumen de extracción de la muestra (ml)

FR = factor de recuperación en tanto por uno

Disolventes de lavado: $L3 \text{ (ppm)} = L2 \text{ (}\mu\text{g/ml)} \times FR$

Por lo que a partir de estos límites se establece el máximo remanente de la sustancia anterior permitida en el producto posterior también conocida como MACO (maximum allowable carryover) y cuya ecuación queda de la siguiente forma:

$MACO \text{ (}\mu\text{g)} = 1/SF \times d/D \times T_{min} \times 1000$

SF = factor de seguridad entre 10 y 100.000

d = dosis terapéutica mínima diaria ($\mu\text{g/día}$) del API contaminante (analito de A)

D = dosis terapéutica máxima diaria (g/día) del producto B fabricado a continuación (API con excipientes)

T_{min} = tamaño de lote mínimo de B en volumen (L) o en peso (Kg)

b) Límite relacionado con la adulteración (presencia de trazas)

(Salazar, 2007 y Furman, 1993)

Generalmente se considera aceptable un límite de **1 – 10 ppm** (no más de 1 – 10 ppm de contaminante A en el producto B).

El límite expresado en MACO:

$MACO \text{ (}\mu\text{g)} = L1 \text{ (ppm)} \times T_{min} \times 1000$

L1 (ppm) = Límite seleccionado

T_{min} = tamaño de lote mínimo de B en volumen (L) o en peso (Kg)

c) Criterio organoléptico (Visualmente limpio)

El VRL (Visual Residue Limit) se define como el límite por debajo del cual un residuo no es visible bajo unos parámetros definidos. Los parámetros que influyen en la visibilidad o detección del residuo son:

- 1- Compuesto si está en solución o suspensión
- 2- Material de construcción de la superficie o del equipo
- 3- Cantidad conocida del residuo
- 4- Tamaño del punto consistente
- 5- Secado en atmósfera de nitrógeno

Se tiene que establecer los parámetros de visualización con 3 o más observadores y calcular:

- Límite de residuos visibles (VRL)
- Límite de aceptación química de residuos (ARL)

Varios estudios demuestran la aplicabilidad del método (Forsyth, 2004, 2005 y 2009) aunque no exime de una ardua y pautada experimentación que lo valide, se deben calcular los VRL (Visual Residue Limits), los ARL (Acceptable Residue Limits) y se comparan. Si el VRL > ARL, por defecto se tendrá que analizar químicamente el equipo y no será aplicable el ARL. Sin embargo, si el VRL < ARL, se puede hacer un uso del método bajo parámetros bien definidos de distancia, intensidad de la luz ambiente, ángulo de visión y apariencia de los residuos (Forsyth, 2004, 2005 y 2009) (ver tabla 9).

<p><u>Características de la planta industrial</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> -La superficie de los equipos es generalmente grande - Se hace más limpieza CIP - Desmontaje equipos más limitado - Parámetros de visualización restringidos
<p><u>Parámetros de visualización recomendados en planta piloto</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> -Distancia (5 – 20) pies* - Intensidad de la luz (100 – 1400) lux - Ángulo de visión (15 – 90) °
<p><u>Limitaciones de la técnica en planta industrial</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> -De los propios residuos - Distancia > 10 pies* - Intensidad de la luz <200 lux - Ángulo de visión <30 °
<p><u>Formación del personal</u></p>	<ul style="list-style-type: none"> -Debe ser muy completa y para la mayoría de los API: algunos tienen una apariencia similar - Condiciones de visualización bajo estrés: luz y ángulos de visión - Redundancia imprescindible: dos personas controlando - Rotación personal

*Un pie equivale a 30,48 cm.

Tabla 9: Aplicación metodología de los VRL en una planta industrial: condiciones a tener en cuenta (Forsyth, Nov 2007).

Apartir de los trabajos desarrollados por Forsyth, el límite organoléptico se sitúa aproximadamente entre 4 y 20 ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) (Forsyth et al. Jan 2007). El límite de 4 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ está basado en 100 $\mu\text{g}/\text{swab}$ (para una placa de 25 cm^2 : $100\mu\text{g}/25\text{cm}^2 = 4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$).

d) Criterio según el umbral de preocupación toxicológica (TTC)

En los últimos años, han ido surgiendo publicaciones que establecen los límites para la validación de limpieza en base a los principios del "umbral de preocupación toxicológica" (TTC= Thresholds of Toxicological Concern). El principio básico detrás del concepto TTC es que para los productos químicos con datos limitados de seguridad, puede ser posible determinar una ingesta diaria admisible (ADI) cuyo valor esté basado en los datos conocidos de los productos químicos, cuando haya una base de datos establecida de información sobre los valores de ADI (Kroes, 2005 y Barlow 2005).

El concepto de TTC lo estableció Frawley en 1967 y varias publicaciones posteriores perfeccionaron la idea y en 1995 la FDA (Food and Drug Administration) lo adoptó para el control de los contaminantes que migran a los alimentos desde los materiales de envasado (Kroes, 2002).

Este concepto se ha ampliado para abarcar a otros productos químicos que no se consideran cancerígenos, y para ser aplicado en la industria farmacéutica. En su guía sobre los límites de las impurezas genotóxicas, la EMEA se basó en los principios del TTC y estableció un límite de 1,5 µg por día para los residuos genotóxicos en los productos farmacéuticos (EMEA, 2006). Es el caso también de las guías de ICH sobre las impurezas químicas en API (ICH Q3A (R2)), producto acabado (ICH Q3B (R2)) y los límites de los disolventes residuales en API (ICH Q3C (R5)).

El concepto fue aplicado a la validación de limpiezapor Dolan (Dolan, 2005), que se basa en los valores de los límites de exposición profesional para los trabajadores en la industria farmacéutica y de residuos de los procesos de limpieza, y establece una estimación de los valores de ingesta diaria aceptable (ADI) para los productos químicos con datos limitados de toxicidad.

Dolan propone tres valores de ADI para tres categorías de compuestos:

- 1 µg por día para los cancerígenos sospechosos.
- 10 µg por día para activos que no son cancerígenos, pero son considerados potentes o muy tóxicos.
- 100 µg por día para activos que no son potentes y no muy tóxicos.

Hay que mencionar que según Kroes et al. (2004) quedan excluidas del concepto TTC ciertas clases de compuestos como es el caso de metales pesados, dibenzo-p-dioxinas polihalogenadas, dibenzofuranos y bifenilos, sustancias químicas que afectan al sistema endocrino, incluyendo esteroides y compuestos con alto peso molecular como es el caso de polímeros y proteínas, organofosforados y alérgenos.

El TTC ofrece la posibilidad de simplificar los cálculos para el establecimiento de los límites de aceptación de los residuos de limpieza, frente a los criterios explicados previamente.

e) Criterio según el PDE exposición diaria aceptable

Se define PDE o exposición diaria aceptable, como la dosis de un producto que puede penetrar en el organismo diariamente, durante toda la vida, sin que resulte perjudicial para la salud. La determinación del PDE se realiza en varias etapas:

- Identificación del peligro. Se realiza una revisión de todos los datos disponibles (en animales y humanos) para cada producto. Esta revisión incluye información sobre mecanismo de acción, estudios de toxicidad con dosis repetidas, potencial carcinogénico, estudios de genotoxicidad in-vitro e in-vivo, estudios toxicológicos sobre reproducción, etc.
- Identificación de los efectos críticos. Se realiza la evaluación de los efectos terapéuticos y adversos en humanos.
- Establecer el valor de NOAEL, dosis máxima que no produce efectos adversos observables (No Observed Adverse Effect Level), para los efectos críticos observados. En caso de que no sea posible determinar un valor de NOAEL será necesario utilizar un valor de LOAEL o dosis más baja capaz de producir efectos adversos (Low Observed Adverse Effect Level).
- Aplicación de factores de corrección o de incertidumbre para la obtención del valor final de PDE.

El cálculo del valor de PDE viene descrito en Guía EMA/CHMP/CVMP/SWP/169430/2012 y en los anexos 3 de la ICH Q3C (R4) y VICH GL 18 con la siguiente ecuación:

$$\text{PDE} = \text{NOAEL} \times \text{Peso individuo} / \text{F1} \times \text{F2} \times \text{F3} \times \text{F4} \times \text{F5}$$

El valor de PDE se basa, por tanto, en un valor de NOAEL (o LOAEL en su defecto), el peso corporal del individuo y una serie de factores de incertidumbre o corrección según el compuesto, la toxicología y la farmacocinética. Se aplican los siguientes factores de incertidumbre:

F1: Factor que considera la extrapolación entre especies y que se establece en base al ratio de la masa corporal entre las diferentes especies. Los valores para este factor varían desde 2 (extrapolación de perros a humanos) hasta 12 (de ratones a humanos).

F2: Es un valor convencional para poder cubrir la variabilidad entre individuos. Se considera un valor arbitrario de 10 para cubrir todas las eventualidades.

F3: Es un factor que considera la duración de los estudios toxicológicos, con valores entre 1 (para estudios que duran la mitad de la vida del animal) y 10 (en estudios de corta duración, menor de tres meses para roedores y menos de dos años para no roedores).

F4: Factor aplicable en caso de toxicidad severa (carcinogenicidad, genotoxicidad, teratogenicidad, neurotoxicidad, efectos en la reproducción, etc.) con valores entre 1-10.

F5: Factor empleado en caso de que no sea posible utilizar el valor de NOAEL. Se emplea un valor de 10 en caso de que se utilice el LOAEL para los cálculos de PDE.

Finalmente, puede ser necesario aplicar un factor de extrapolación a otras rutas de administración (PK) siempre que exista una clara modificación de la biodisponibilidad (>40%) por estas causas.

El informe toxicológico final en el que se base el cálculo de los valores de PDE, debe estar basado en revisiones bibliográficas, empleando monografías, bases de datos médicas y toxicológicas, libros de texto, publicaciones científicas, etc. recurriendo, en la medida de lo posible, a las fuentes originales de los estudios tanto en animales como en humanos. Para ello se ha consultado diferentes bases de datos oficiales:

<http://echa.europa.eu/en/information-on-chemicals/registered-substances>,

<https://apps.ideaconsult.net/data/ui/toxtree>,

<http://www.drugbank.ca/> y fichas técnicas de producto.

Toda la estrategia de búsqueda debe estar documentada. Es necesaria además una discusión del experto relativa a los efectos críticos y a la selección de los parámetros toxicológicos, además de la explicación de los factores de ajuste.

El valor final de PDE obtenido a partir de los procedimientos descritos será el punto de partida para el cálculo de los límites de limpieza.

5.3.4- Muestreo

a) Métodos de muestreo para la validación de limpieza

Hay tres métodos de muestreo utilizados en validación de limpieza:

- Swab (o muestreo directo de superficie)
- Agua de aclarado
- Placebo

La elección del método de muestreo depende directamente del tipo de muestreo que interese llevar a cabo, del área o superficie tratada y de la recuperación o rendimiento obtenido en las pruebas previas.

- La técnica de frotado mediante swab:

Requiere el uso de un swab (algodón o hisopo) saturado con disolvente para muestrear directamente las superficies a analizar.

Ventajas:

- Es la técnica de muestreo preferible y la más aceptada por las autoridades sanitarias.
- Disuelve y recupera la muestra de manera física y directa.
- Adaptable a varios tipos de superficies.
- Económica y accesible.
- Permite muestrear una superficie determinada y cuantificable.
- Aplicable a API, residuos, agentes de limpieza, excipientes, microorganismos, etc.

Limitaciones:

- Técnica invasiva que puede introducir fibras al proceso, según la calidad del swab.
- El resultado puede depender de la técnica (reproducibilidad).
- El material de composición del swab puede inhibir la recuperación del API.
- Difícil accesibilidad a determinados puntos (válvulas, tuberías..).
- El resultado es subjetivo, puede variar entre un operario y otro, si no está bien estandarizado.

- La técnica del agua del enjuague final del equipo:

Esta técnica consiste en pasar un volumen conocido de solución de enjuague sobre toda la superficie del equipo y analizarla.

Ventajas:

- Adaptable al control en línea.
- Fácil de muestrear.
- No-intrusiva.
- Aplicable al API, detergentes y excipientes.

- Permite muestrear una gran superficie o toda la superficie del equipo.
- Permite muestrear los puntos de difícil acceso.

Limitaciones:

- No permite evaluar residuos insolubles en el medio de disolución (normalmente agua).
- Diluye la contaminación y puede bajar el límite de sensibilidad del método analítico.
- Limita la información sobre el estado de limpieza actual de una superficie en algunos casos.
- Los residuos pueden no estar distribuidos de manera homogénea, sin embargo el resultado será general para todo el equipo.
- No permite detectar puntos críticos (donde se sitúan los residuos).
- El volumen del enjuague es muy crítico para la interpretación con precisión de los resultados.
- Este método ya no es válido para la FDA en el contexto de la validación de la limpieza, pero sigue siendo aceptable para la vigilancia de rutina.

- La técnica de placebo:

Se puede utilizar para detectar los residuos que quedan en el equipo durante el proceso mediante la elaboración de un lote de placebo posteriormente al proceso de limpieza. En este lote de placebo se investiga si hay residuos de productos previos (API, excipientes, etc). Es apropiado para el examen de principios activos, agente de limpieza, partículas y microorganismos. Se utiliza para demostrar la no presencia de residuos en el producto siguiente. Las características del equipo definen el tamaño del lote de placebo. No es una técnica de elección para realizar la validación de la limpieza.

Ventajas:

- El placebo entra en contacto con la misma superficie que el producto.
- Aplicable para las zonas difíciles de alcanzar para ser muestreadas.

Limitaciones:

- La determinación de la recuperación es difícil (los contaminantes pueden no estar distribuidos homogéneamente en el placebo).
- Poca sensibilidad y detectabilidad inhibida.
- Proceso largo y caro.
- El placebo debe ser apropiado para cada producto potencial.
- No analiza directamente la superficie de contacto residuo-superficie.

b) Estudio de recuperación

El estudio de recuperación se lleva a cabo en la técnica de muestreo por swab o hisopo, permite demostrar que el método seleccionado para el muestreo es capaz de recuperar la sustancia estudiada (residuo) a partir de una superficie teóricamente limpia y que el método analítico utilizado para el análisis de la muestra es capaz de identificar la sustancia estudiada, siendo además preciso y fiable (Chudzik, 1998).

Teóricamente, con una metódica ideal el recuperado debe ser del 100%, pero a causa de la solubilidad del residuo y el tipo de material de la superficie generalmente no se puede obtener más que un cierto nivel (Hall, 1998). El factor de recuperación se aplica para corregir los valores encontrados al analizar las muestras, puesto que si no se recupera totalmente, en realidad, el residuo es mayor al que da el método analítico. La guía de la FDA recomienda como mínimo la recuperación del 50% para ser aceptable (Shifflet y Shapiro, 2002).

Para obtener el factor de recuperación estimado con un intervalo de confianza de $\pm 10\%$ el estudio de recuperación debe repetirse al menos 7 veces. Tres ensayos repetidos deben dar un intervalo de confianza de $\pm 15\%$ (Forsyth, Oct 2007).

La determinación del factor de recuperación se debe realizar bajo condiciones de laboratorio similares a las de rutina. El factor de recuperación se determina cargando una cantidad conocida del residuo estudiado en la superficie determinada de unas placas del mismo material que los equipos (acero inoxidable, plástico...) y analizándolas.

Al igual que para la técnica de hisopo, que se está utilizando en el estudio de recuperación para diferentes materiales de construcción, varios autores (Leblanc, 2013) estudian el factor de recuperación para aguas de lavado.

Varios parámetros afectan a la recuperación de residuos de la superficie de los equipos, los más importantes son según (Forsyth, Autumn 2009) :

- Solubilidad del residuo en el disolvente de recuperación.
- Material del Swab.
- Tipo de disolvente y procedimiento de extracción.
- Material de construcción de la superficie del equipo: tipo de material, porosidad, etc.

El swab y el disolvente usados deben ser capaces de recuperar el residuo estudiado. El material del swab debe tener una capacidad de absorción de disolvente suficiente para ser humedecido o saturado con el fin de añadir un efecto de solubilidad con el proceso de eliminación física.

La combinación material del swab/disolvente de recuperación no debe interferir en el ensayo (recuperación), así como debe observarse la no toxicidad del disolvente, de manera que, no se convierta en una fuente de contaminación.

El material de construcción de los equipos de fabricación es un factor principal en la recuperación de los residuos de validación de limpieza. Una parte del equipo con un material con un factor de recuperación bajo debe ser reemplazado por otro que tenga mejor recuperación o ser dedicada exclusivamente a un producto determinado para evitar la contaminación cruzada.

Las superficies en contacto con los productos deben ser lisas, no porosas, compatibles con todos los productos, sin problemas de cesión, migración o absorción y de fácil limpieza. La alta porosidad puede causar una recuperación baja.

En la tabla 10 se muestran los materiales de uso más frecuentes en la industria farmacéutica.

<u>ACERO INOXIDABLE</u>	Fe + Cr+ Ni + Carbono - Resistente a la corrosión y la oxidación - Elevada resistencia mecánica y fácilmente pulible - No poroso, fácil de limpiar - Atacado parcialmente por las soluciones de ácido clorhídrico y de hipoclorito de una cierta concentración
<u>TEFLÓN</u>	- Polímero tetrafluoroetileno - Resistente a la temperatura hasta 260°C - Resistente a todos los ácidos y bases
<u>SILICONAS</u>	- Polímero organosiloxano - Resistentes a la temperatura hasta 250°C - Resistentes a todos los ácidos y bases - Solubles en disolventes orgánicos - Puede presentar problemas de adsorción, absorción y cesión
<u>VIDRIO</u>	- Estado amorfo de sílice, sosa, cal y óxidos metálicos. - Sólo atacable por HF y álcalis calientes concentrados - No poroso, fácilmente limpiable
<u>PLÁSTICOS</u>	PP, PE, PVC - Estables frente ácidos y bases - Poco resistentes al calor: 70°C a 120°C - Poco resistentes a disolventes orgánicos - Puede presentar problemas de adsorción, absorción y cesión

Tabla 10: Características básicas de los materiales de superficie más comunes en los equipos farmacéuticos (Salazar, 2007).

c) Plan de muestreo

El plan de muestreo tiene como objetivo detallar los distintos pasos necesarios para la validación de la limpieza con éxito y se organiza en: (Bailly, 2004)

- Selección de un método de muestreo.
- Elección de un método analítico.
- Determinación del factor de recuperación.

Muestrear con el swab es la etapa más crítica en la preparación de las muestras para la validación de limpieza por diferentes motivos:

1. El proceso generalmente tiene varias etapas manuales.
2. Es subjetivo y puede variar entre un operario y otro.
3. El movimiento físico del swab sobre la superficie debe estandarizarse para asegurar la repetitividad del método (Yang, 2005) (Ver figura 14).

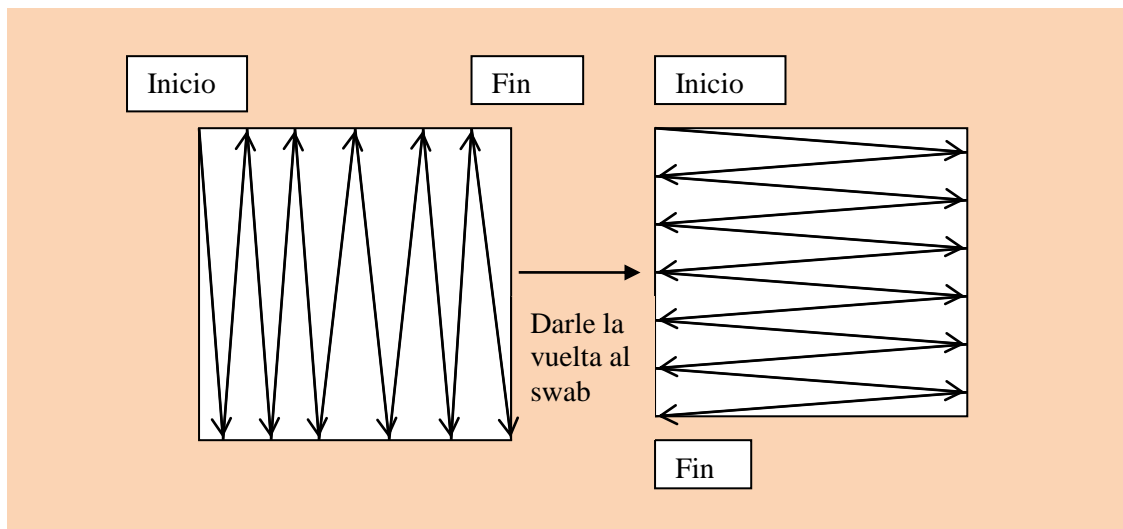


Figura 14: Movimiento del swab sobre la superficie muestreada (Rivera, 2013)

El muestreo en las placas debe ser similar al sistema utilizado en el proceso de limpieza actual (Chudzik, 1998). Uno de los puntos que se tienen que considerar es el número de swab utilizados, la cantidad de disolvente en cada swab, el movimiento exacto del swab sobre la superficie, y el tiempo utilizado para muestrear y sonicar. Algunos estudios han demostrado una mejor y más alta recuperación utilizando dos swabs para cada placa que utilizando sólo uno (Shifflet y Shapiro, 2002).

Para escoger el disolvente a utilizar en el swab, hay que considerar:

- Solubilidad del contaminante a determinar.
- Naturaleza del contaminante a determinar.

- Tipo de superficie a muestrear.
- Material de muestreo utilizado.
- Técnica analítica: Se suele utilizar 10 ml de disolvente de muestreo también llamado disolvente de recuperación para extraer el residuo por sonicación.

Ventajas de la validación de limpieza:

Los principales beneficios de la validación de limpieza son:

- Económico: la validación permite la reducción de costes de calidad (menos número de muestras a controlar...) y del coste de los fallos de producto (rechazos, reprocesos, retiradas, reclamaciones) que es una parte significativa del coste directo de producción. Y este es uno de los puntos de que se dispone actualmente para mejorar la productividad (Kieffer, 1999).
- La garantía de calidad y seguridad: Lo proporciona al fabricante ya que un proceso validado es un proceso sin problemas para producir calidad.
- La mejora de la logística interna del flujo de fabricación: (se pueden adecuar los tiempos de suministro y espera al flujo real) y la inestimable ventaja de detectar a tiempo los errores (detectar una anomalía en la misma fase donde se produce gracias a los indicadores de control del proceso). (García Montoya, 2001)
- El cumplimiento de las regulaciones gubernamentales.
- Asegurar que la cantidad de los residuos recogidos de las superficies del equipo están dentro de los límites permisibles y evitar la contaminación cruzada.
- Prevenir las desviaciones de un proceso de limpieza productivo y menos fallos de proceso por lotes.
- Optimizar el uso de equipos y personal en procesos críticos.
- Facilitar la planificación, control del proceso.
- Verificar la capacidad del proceso (Caro, 1996).

Propuestas de mejora para llevar a cabo una validación de limpieza eficiente:

La validación es una operación costosa y necesita de personal cualificado. Sin embargo, la evaluación basada en el riesgo y la determinación de los pasos críticos deberían usarse para identificar qué necesita validarse, y qué puede ser simplemente verificado (mediante ensayos si se necesita). Se listan a continuación algunos recursos que permitan ahorrar en la optimización del proceso:

- Practicar reagrupamientos de validación, validando sólo el producto más problemático y extrapolando las conclusiones al resto de productos.
- Validar el caso más desfavorable o "peor caso" (por tipo de máquina o tipo de producto).

- Utilizar herramientas estadísticas (diseño factorial, capacidad, planes de experiencias).
- Racionalizar la validación en sí misma (iniciarlo para los productos nuevos, o los más interesantes económicamente, etc.) (Roman, 1997).
- Disponer de documentos y protocolos que se adapten a las futuras validaciones.

5.3.5- Validación de los métodos analíticos

Los métodos de análisis utilizados deben ser validados antes del inicio de la validación de limpieza. La validación de estos métodos permite aumentar la fiabilidad de los resultados que se van a obtener.

El objetivo de validar un procedimiento de análisis es demostrar que es apropiado para el uso previsto, en este caso comprobar que no quedan trazas de residuo en los equipos.

Los parámetros de validación a considerar son:

- Precisión: La repetibilidad y precisión intermedia
- Especificidad
- Límite de detección: El requisito básico para el método analítico es la sensibilidad del método que tiene que ser adecuado al límite de contaminación establecido.
- Límite de cuantificación
- Linealidad
- Intervalo de análisis
- Exactitud: Durante el desarrollo analítico es necesario hacer un estudio de recuperación para comprobar los métodos de muestreo y análisis.

a) Método analítico

Los métodos analíticos utilizados para detectar cualquier residuo son de dos tipos: métodos específicos y no específicos.

La elección del tipo de método es difícil pero si se trata de un producto tóxico, un método específico es siempre más recomendable. La elección de uno u otro método debe basarse en criterios de sensibilidad, especificidad y límite de detección. El método debe ser lo suficientemente sensible para detectar (límite de detección - LD), y también cuantificar el producto identificado como "peor caso" (límite cuantificación - LC).

Siempre es conveniente elegir la técnica más simple que se puede utilizar en rutina para la detección de los residuos. En la tabla 11 aparecen comparados los dos tipos de que respecto a sus ventajas y desventajas.

	Métodos específicos	Métodos no específicos
Ventajas	- Detecta con precisión el compuesto determinado	- Desarrollo fácil - Permite detectar varios residuos juntos
Inconvenientes	- Tiempo de desarrollo largo - Tiempo de análisis largo - Muy a menudo es caro	- No permite aislar los compuestos valorados

Tabla 11: Ventajas y desventajas de los métodos de análisis (IVT, 2002).

La FDA recomienda el uso de métodos específicos en lugar de pruebas no específicas durante la validación de limpieza, pero acepta los métodos no específicos si se justifica adecuadamente su uso. Las técnicas inespecíficas son aceptables, sin embargo, cuando se trata de vigilar en la rutina la eficacia de un proceso de limpieza (Bailly, 2004).

La siguiente tabla (tabla 12) muestra los métodos disponibles que se utilizan con más frecuencia en validación de la limpieza farmacéutica.

Método de análisis	Características				Aplicación o determinación	
	Sensibilidad	Especificidad	Simplicidad	Coste	Residuo químico	Agente de limpieza
Resistividad/actividad	+	+	+++	++	No	Si
pH	+	+	+++	++	No	Si
Titulación Ácido/Base	++	+	++	++	No	Si
Pérdida a la desecación	++	+	++	+	Si	No
EspectrofotometríaUV / Visible	+++	++	+++	++	Si	No
CCF*	++	+++	++	++	Si	No
HPLC	+++	+++	+	+++	Si	No
GC**	+++	+++	+	+++	Si	Si
Enzimática	+++	+++	++	++	Si	No
TOC	+++	No	++	+++	Si	Si

*CCF: Cromatografía en capa fina. **GC: Cromatografía gaseosa

Tabla 12: Comparación de los métodos físico-químicos de análisis (Laban, 1996).

- Método específico

Es un método capaz de detectar cada ingrediente del producto analizado diferenciándolo de otros productos incluso semejantes químicamente.

Algunos ejemplos de los métodos específicos son: la cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), cromatografía de iones, absorción atómica, electroforesis capilar, fotometría de llama, detección enzimática, etc...

Se tiene que seleccionar la técnica más sensible con el nivel de detección más específico para verificar las bajas concentraciones de residuos después de un proceso de limpieza.

- Método no específico

Son métodos generales o de amplio espectro que detectan cualquier compuesto que produce una determinada respuesta. Algunos ejemplos de los métodos no específicos: Carbono Orgánico Total (COT), pH, y conductividad.

Los métodos más aconsejables para la validación de la limpieza son: TOC para todas las sustancias orgánicas y conductimetría para todas las sustancias iónicas.

5.4- Seguimiento de un proceso de limpieza validado

5.4.1- Tiempo de permanencia limpio y sucio

Varios organismos reglamentarios en sus guías recomiendan a las compañías farmacéuticas determinar el intervalo de tiempo entre el fin de la producción y el inicio de los procedimientos de limpieza, así como los plazos y las condiciones para el almacenamiento de los equipos limpios para evitar la proliferación microbiana (FDA, 1993; EU-GMP, 2001; PIC/S PI 006-3, 2007)

Concretamente la FDA (1993) declara, *“Debería haber evidencia de que la limpieza y almacenamiento del equipo de manera rutinaria no permita la proliferación microbiana”*. Por tanto, las peores condiciones deben evaluarse como parte del estudio de validación del proceso de limpieza, por ejemplo el estudio del tiempo de permanencia sucio que puede afectar significativamente la eficacia del proceso de limpieza ya que representa el peor de los casos: cuando no se retira el residuo y se deja sobre el equipo un tiempo.

Para mantener los equipos en condiciones óptimas se tiene que:

- 1) Disponer de instrucciones de almacenamiento específicas y especificadas en los procedimientos de limpieza y de almacenamiento.
- 2) Guardar o almacenar los equipos secos o protegidos en una solución que evite la proliferación de microbios.

3) Identificar las fuentes potenciales de microbios o contaminantes ambientales.

4) Documentar los controles para prevenir la contaminación cruzada.

Si se establecen los tiempos de permanencia limpio y sucio durante la validación y se mantienen en condiciones bien definidas y bajo control, la necesidad de volver a limpiar el equipo antes de su uso no es imprescindible y puede dar un ahorro importante de tiempo y recursos (Forsyth, Jun 2008).

Los procedimientos de almacenamiento deberían especificar qué se debe hacer cuando se excede un tiempo de permanencia limpio validado. Si esto ocurre, el equipo debe limpiarse nuevamente con el procedimiento de limpieza validado o puede efectuarse un enjuague con agua caliente para reducir la contaminación a un nivel aceptable antes del uso o de posteriores procesos (cgmpblog, 2012).

Si se efectúa algún cambio sobre el equipo, proceso de fabricación o procedimiento de limpieza, debería evaluarse el impacto de esos cambios sobre los estudios de tiempo de permanencia limpio o sobre la validación.

a) Tiempo de permanencia del equipo limpio (Clean Hold Time)

El tiempo de permanencia del equipo en estado limpio es el tiempo transcurrido entre la finalización de la limpieza del equipo y su uso en una nueva operación de fabricación. Esto es para evaluar la efectividad del procedimiento de limpieza sobre la parte del equipo limpio, seco y bien almacenado. Si el equipo se coloca en la sala para guardar equipos antes de completar su proceso de secado o si el equipo se guarda de forma inapropiada, podría desarrollarse contaminación microbiana inaceptable.

Este tiempo debería ser controlado, especificado y respaldado para todos los procedimientos de limpieza (cgmpblog, 2012).

b) Tiempo de permanencia del equipo sucio (Dirty Hold Time)

El tiempo de permanencia del equipo en estado sucio se define como el tiempo transcurrido entre la finalización del proceso de fabricación en un equipo y el inicio del proceso de limpieza. Este tiempo puede permitir que los residuos se sequen y se hagan más difíciles de eliminar. Esta demora de tiempo puede crear un gran desafío para los procedimientos de limpieza (Forsyth, Apr 2008).

La eliminación de la suciedad en el equipo se vuelve difícil cuando el DHT aumenta, y para el equipo una vez limpio la posibilidad de que se ensucie aumenta cuando aumenta el CHT (Forsyth, Apr 2008 y Fugate, 2007).

5.4.2- Análisis microbiológico

El análisis microbiológico es una parte esencial del programa de validación de limpieza. El recuento de los microorganismos permite conocer la calidad microbiológica de las zonas de producción, y permite examinar el cumplimiento de las especificaciones reglamentarias (WHO, 2012). Por esta razón, todas las zonas de producción deben mantenerse en unas condiciones específicas de higiene, con niveles mínimos de microorganismos y partículas que se denominan zonas limpias (NCF (Anexo I).3, 2014). Según la guía de NCF se clasifican las superficies de los locales de fabricación de estos productos en cuatro clases o grados A; B; C; D. Clasificados desde el más crítico hasta el menos crítico, los límites establecidos también se marcan en la tabla 5 (apartado 3.6. Salas limpias o blancas).

Para establecer un límite de contaminación microbiológica de las preparaciones farmacéuticas, hay que tener en cuenta la vía de administración del producto farmacéutico y la naturaleza o tipo del microorganismo contaminante. Ver tabla 13 para formas farmacéuticas no estériles.

Los productos con contenido importante de agua (por ejemplo cremas, geles y líquidos orales) o de origen vegetal son propensos a favorecer el crecimiento microbiano. Dichos productos deben incluir pruebas y límites para el contenido microbiano, tanto en la liberación de los lotes como para las especificaciones de estabilidad.

Vía de administración	TAMC (ufc/g ó mL)	TYMC (ufc/g ó mL)	Microorganismos específicos
Preparaciones no acuosas para uso oral	10 ³	10 ²	Ausencia de <i>Escherichiacoli</i> (1 g ó 1 mL)
Preparaciones acuosas para uso oral	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Escherichiacoli</i> (1 g ó 1 mL)
Vía rectal	10 ³	10 ²	—
Vía oromucosal	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
Vía gingival	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia of <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
Vía cutánea	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
Vía nasal	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
Vía auricular	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
Vía vaginal	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Candidaalbicans</i> (1 g ó 1 mL)
Parches transdérmicos (límites para un parche incluyendo la capa adhesiva y el soporte)	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 parche)
			Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 parche)
Via Inhalatoria (excepto soluciones fisiológicas para nebulizar)	10 ²	10 ¹	Ausencia de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de <i>Pseudomonasaeruginosa</i> (1 g ó 1 mL)
			Ausencia de bacterias Gram-negativas tolerantes a la bilis(1 g ó 1 mL)

TAMC: (Total aerobic microbial count) Recuento de microorganismos aerobios totales.

TYMC: (Total yeast and mould count) Recuento combinado de hongos filamentosos.

ufc: unidad formadora de colonias

Cabe señalar que cuando se prescribe un criterio de aceptación para la calidad microbiológica, se interpreta de la siguiente manera: 10¹ufc: número máximo aceptable = 20; 10²ufc: número máximo aceptable = 200; 10³ ufc: recuento máximo aceptable = 2000, y así sucesivamente.

Tabla 13: Criterios de aceptación de la calidad microbiológica para las diversas formas de dosificación no estériles (WHO, 2012; Ph. Eur 5.1).

6- Gestión de riesgo ICH Q9

6.1- Análisis de riesgos en la validación de limpieza

En la industria farmacéutica, la calidad del producto debe ser considerada durante todo el ciclo de vida: desde el desarrollo del medicamento hasta su venta. Actualmente la ICH Q9 está incluida dentro del anexo 20 de las NCF por lo que es de obligado cumplimiento.

El análisis de riesgo resulta una técnica muy útil y coherente para aplicar a la validación de limpieza ya que ayuda a organizar y planificar la validación desde un punto de vista racional (White, 2005).

En la figura 15, se representa la metodología general del análisis de riesgo, que se puede resumir en las siguientes etapas:

1. División del proceso en operaciones (fases)
2. Definición de criterios de análisis y evaluación
3. Definición de riesgos por operación (Risk identification)
4. Asignación de valores a cada riesgo (Risk analysis evaluation)
5. Implementar las acciones destinadas a reducir la gravedad y/o probabilidad de que se produzca un daño (Risk control)
6. Transmisión de la información referente a los riesgos entre las personas que gestionan el riesgo y las personas que pueden verse afectadas por el daño producido (Risk communication)
7. Actualización del análisis de riesgo (Risk review)

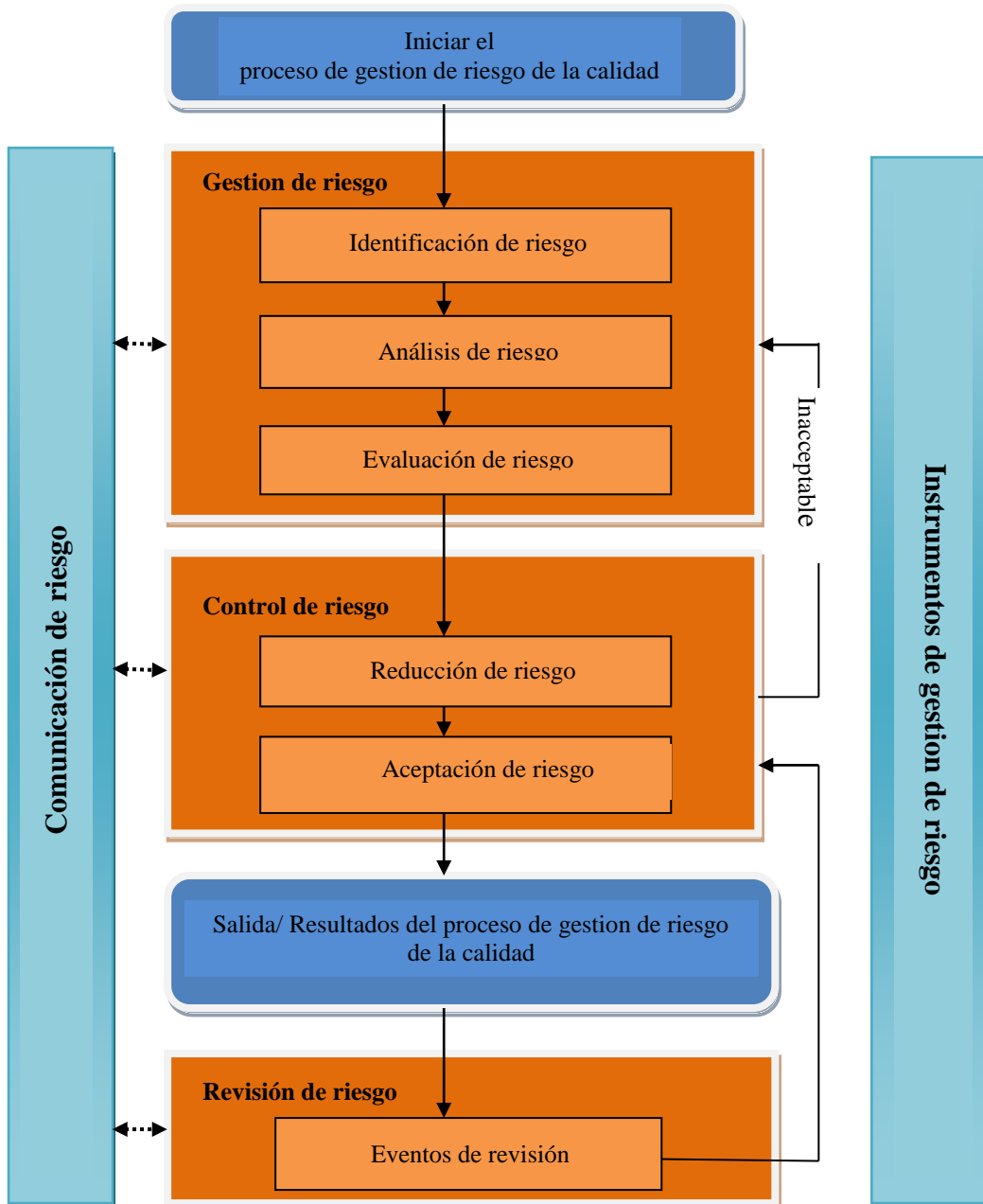


Figura 15: Modelo general de gestión de riesgos de la calidad: ICH Q9 (2005)

6.2- Herramientas para el análisis de riesgos

Las herramientas de análisis de riesgo más utilizadas en la industria farmacéutica para análisis de productos farmacéuticos son: modo de fallo y análisis de los efectos (FMEA), análisis de peligros y puntos críticos de control (HACCP)(Análisis de Riesgos y Control de Puntos Críticos) aunque existen otras que también aparecen en el anexo de la ICH Q9.

6.2.1- Risk Ranking and Filtering (RRF)

Metodología para priorizar el riesgo que nos permite la obtención de un listado de los riesgos evaluados y ordenados según su criticidad. Con el resultado se podrá valorar los posibles riesgos a reducir. Se utiliza en sistemas con diversos tipos de riesgo, muchas variables y con consecuencias asociadas variadas. En la figura 16 aparece la sistemática a seguir para su aplicación.

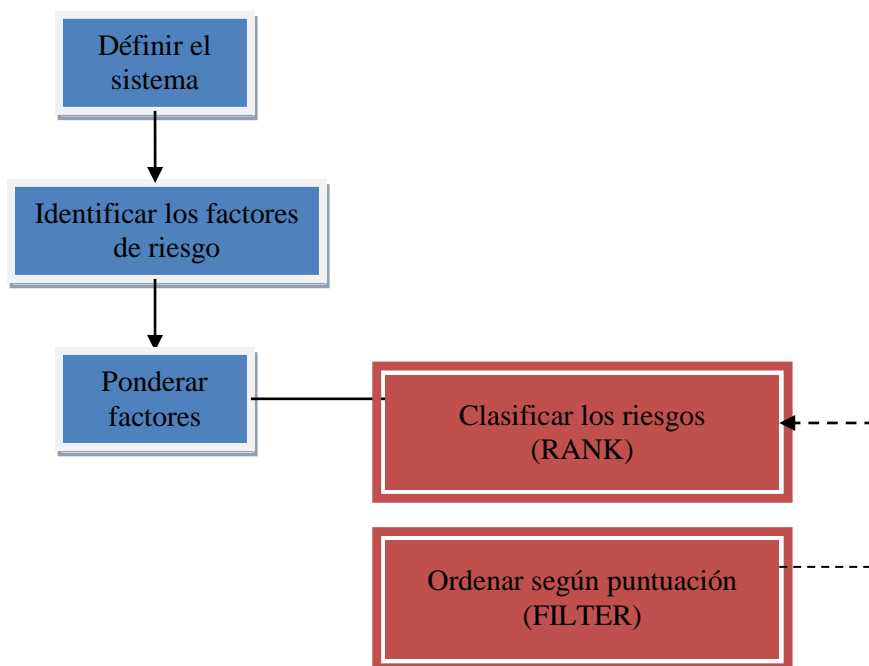


Figura 16: El proceso de RRF (Tazón, 2007)

Las fases del RRF:

- 1- Identificación del riesgo y establecimiento de grupos de factores de riesgo
- 2- Ponderación del riesgo

Va a depender del autor, el valor que se asigna a cada factor de riesgo, en este caso serán:

a. Factor de riesgo (criticidad)

Factor de riesgo	Ponderación
Muy crítico	3
Moderadamente crítico	2
Poco crítico	1

b. Grado de riesgo (severidad asociada a cada factor de riesgo)

Factor de riesgo	Ponderación
Muy severo	0,50
Moderadamente severo	0,25
Poco severo	0,10

6.2.2- Failure Mode and Effects Analysis (FMEA)

Se puede aplicar para identificar los peligros y su probabilidad de ocurrencia. Se trata de una herramienta de prevención, para identificar todos los fallos potenciales de un producto, proceso o sistema antes de utilizarlo, así como la evaluación de los efectos o consecuencias de los modos de fallo identificados (Stamatis, 1995). Es una metodología basada en el conocimiento del producto y/o proceso que permite la gestión de procesos complejos dividiéndolos en pasos sencillos. En la figura 16 se esquematiza cuando se recomienda usar la técnica FMEA y en la figura 17 su sistemática de aplicación.

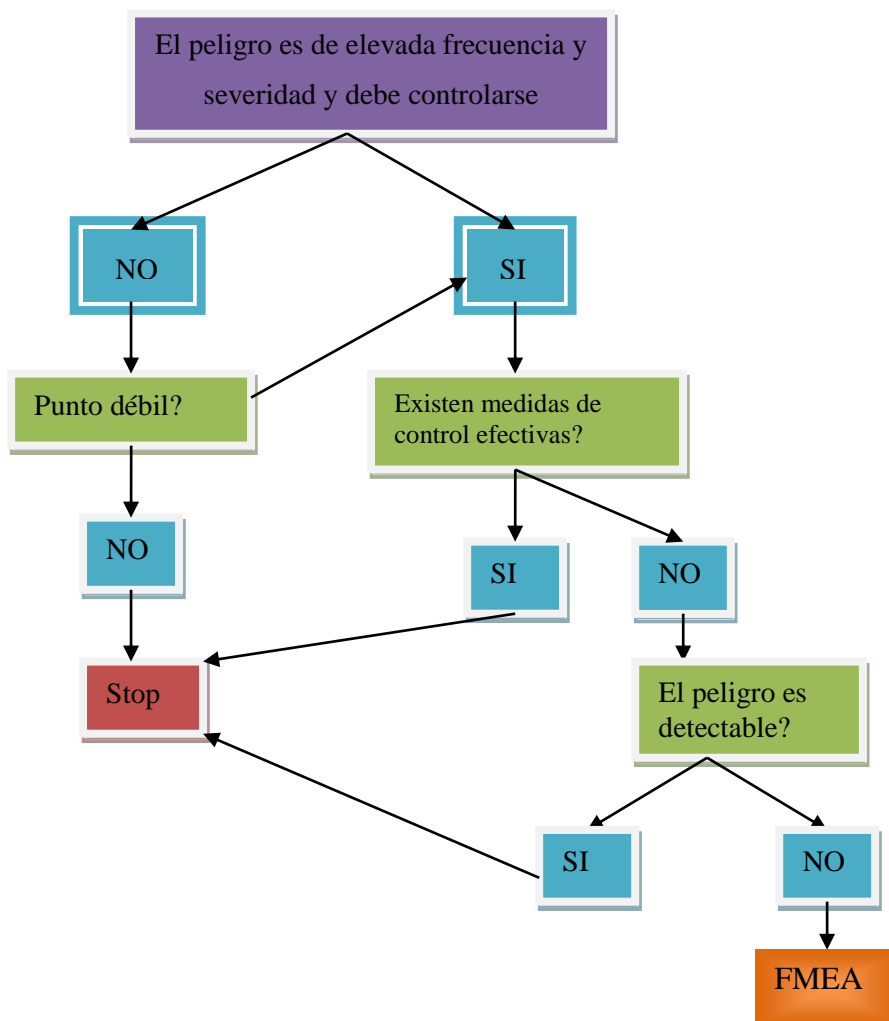


Figura 17: Cuando se emplea FMEA(Tazón, 2007)

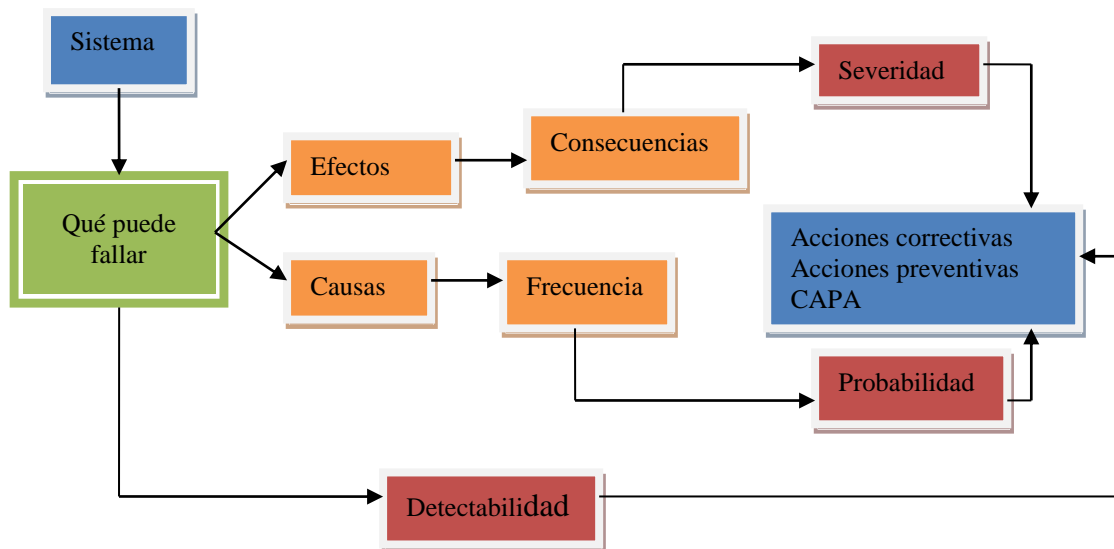


Figura 18: El proceso de FMEA(Tazón, 2007)

Para aplicarlo se divide el proceso en las partes independientes y después se analiza cada una frente a 3 parámetros (Schneider, 2004; Salazar, 2007; White, 2005):

- Severidad o gravedad
- Detectabilidad
- Probabilidad

Para cada uno se valora si el efecto de no actuar sobre ese factor tendrá consecuencias o efectos de alto, medio o bajo grado sobre cada parámetro.

- Valores de gravedad:

Se considera que el riesgo puede ser:

Alto: El resultado de no actuar daría un producto que no cumple con las especificaciones

Medio: puede tener algún efecto sobre la calidad del producto

Bajo: no afecta a la calidad del producto, o de forma muy leve

- Valores de probabilidad:

Alto: muy probable que suceda

Medio: puede suceder en situaciones normales

Bajo: muy improbable que suceda

- Valores de dificultad de detección:

Bajo: el problema se detecta fácilmente cuando sucede

Medio: el problema puede identificarse cuando sucede

Alto: el problema no se puede identificar cuando sucede

Normalmente se construye una tabla (ver tabla 14) donde se listan en la columna izquierda todas las partes del proceso o partes del equipo para poder analizarlas con detalle.

Fase del proceso	Riesgo asociado	Probabilidad	Gravedad	Dificultad de detección	Acción requerida

Tabla 14: Tabla para llevar a cabo un análisis de riesgo mediante la herramienta FMEA

Aunque podrían establecerse más criterios y más especificaciones para la validación de limpieza, la idea es que el método debe identificar las situaciones o partes más críticas (más difícil para limpiar) y destacarlas para ser tratadas antes que las menos críticas.

Las fases de la FMEA

- 1- Identificación del fallo (qué podría fallar)
- 2- Listar los efectos del posible fallo
- 3- Puntuar la criticidad de los efectos (tabla de severidad)
- 4- Asignar una severidad a los efectos del posible fallo
- 5- Establecer posibles causas del fallo
 - a. Identificar las causas para cada fallo, no para cada efecto
- 6- Asignar una frecuencia del posible fallo (tabla de probabilidad)
- 7- Identificar los controles de detección y prevención presentes
 - a. Asegurar que los controles detecten las causas o fallos
- 8- Asignar un valor de detección de los controles
- 9- Calcular el RPN (Risk priority number). Se calcula multiplicando los factores de probabilidad, detectibilidad y gravedad.
- 10- Resultados= acciones
 - a. Asignar un responsable de acción/fecha límite
 - b. Asignar un responsable de seguimiento

6.3- Análisis de riesgos asociados a la validación de limpieza

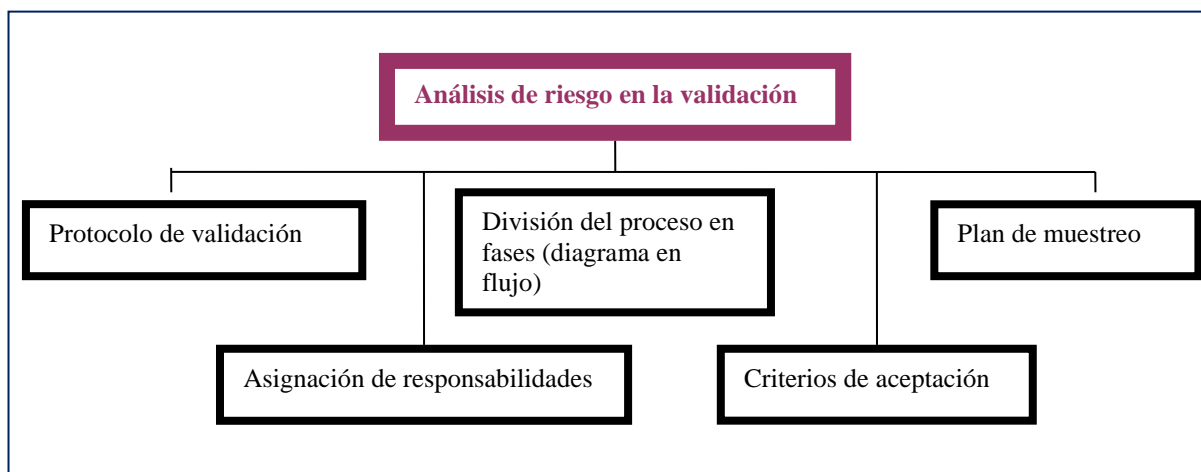


Figura 19: Análisis de riesgo en la validación

En la figura 19 se esquematizan las fases en las que se puede analizar su contribución al riesgo de no tener producto correcto.

6.3.1- Análisis de riesgo de los procedimientos de limpieza

Se sigue el procedimiento paso a paso, para detectar los puntos críticos del proceso susceptibles de provocar fallos o errores y se establece una puntuación basada en la severidad, probabilidad de ocurrencia y facilidad de detección.

6.3.2- Análisis de riesgo en el plan maestro de validación

Es el documento que recoge los criterios de validación, asigna responsabilidades y organiza todas las actividades de la planta susceptibles de dar lugar a error o fallo.

6.3.3- Análisis de riesgo y el enfoque de la matriz de validación

Para la validación de limpieza de varios equipos, puede emplearse un enfoque en forma de matriz. Los equipos de similar tamaño y tipo de material se pueden agrupar, y un representante del grupo se puede analizar después de las operaciones de limpieza para validar el proceso de limpieza.

La guía de la FDA (1987) define el “**peor caso**” como: Un conjunto de condiciones que abarcan circunstancias y límites de proceso superiores e inferiores, incluyendo aquellos dentro de procedimientos operacionales estándar, que plantean la mayor oportunidad de fallo de proceso o producto en comparación con condiciones ideales (FDA white paper, 2011).

La estrategia del peor caso “worst case” en los ensayos de validación, reduce la cantidad de los estudios de validación de un sistema o proceso. Al demostrar que el proceso de limpieza

es coherente y eficaz para las condiciones del peor caso, todas las demás condiciones están, por defecto, validadas.

6.4- Gestión de cambios

El objetivo primordial de la gestión de cambios es la evaluación y planificación del proceso de cambio para asegurar que si éste se lleva a cabo, se haga de la forma más eficiente, siguiendo los procedimientos establecidos y asegurando en todo momento la calidad y continuidad del proceso (www.osiatis.es).

Los principales beneficios derivados de una correcta gestión del cambio son (www.osiatis.es):

- Se reduce el número de incidentes y problemas potencialmente asociados a todo cambio.
- Se evalúan los verdaderos costes asociados al cambio y por lo tanto es más sencillo valorar el retorno real de la inversión.
- Se desarrollan procedimientos de cambio estándar que permiten la rápida actualización de sistemas no críticos.
- Los cambios son mejor aceptados y se evitan "tendencias inmovilistas".

Los cambios deben controlarse conforme a un sistema establecido para el control de cambios (NCF, 2014). Cualquier cambio que modifique las condiciones bajo las cuales se validó la limpieza debe evaluarse para determinar la necesidad de una revalidación o no.

Los cambios pueden clasificarse (p. ej. como mayores o menores) según la naturaleza y extensión de dichos cambios y según los efectos que estos cambios puedan provocar en el proceso. Se decidirán en base a un criterio científico los análisis y estudios de validación adicionales necesarios para la justificación de un cambio en un proceso validado (NCF, 2014). Cuando los cambios no produzcan modificaciones en los límites establecidos (ARL = límite de aceptación química de residuos) o en los productos “peor caso”, la validación se mantendrá vigente, y se establece una revisión que demuestre que el cambio no afecta el estado validado. En el caso contrario se debe revalidar el proceso de limpieza.

7- Calidad por diseño y validación de limpieza

En los últimos años, en el sector farmacéutico se ha hecho progresos significativos en la aplicación de los conceptos de calidad por diseño "Quality by Design" (QbD). El enfoque de este concepto es que la calidad debe ser construida en el diseño del producto y no puede ser probada después de su concepción mediante la implantación de controles. Es un concepto basado sobre la ciencia y la gestión de riesgo. (ICH Q8 (R2), 2009)

Dentro de la calidad por diseño aplicada a la validación de limpieza se aplican diferentes herramientas que ayudarán a conocer mejor el proceso y a establecer las condiciones de trabajo con mejor calidad. (Ver figura 20).

El intervalo de operación será constituido por los diferentes intervalos de funcionamiento definidos en los procedimientos de fabricación. El intervalo de caracterización es el intervalo examinado durante el proceso de caracterización y el intervalo aceptable es la salida de los estudios de caracterización y define el proceso de espacio de diseño (Rathore, 2007).

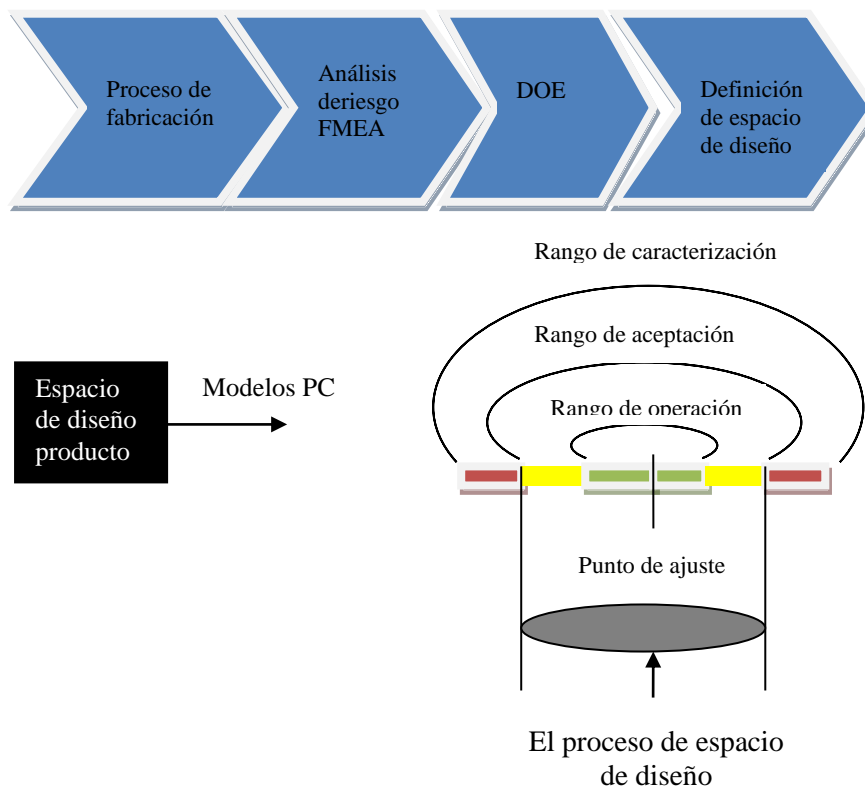


Figura 20: Creación del espacio de diseño a partir de los estudios de caracterización y su relación con el rango de operación y de aceptación (Rathore, 2009).

7.1- Aplicación de los conceptos Q8 y espacio de diseño a la validación de limpieza

El espacio de diseño se puede definir como la combinación multidimensional y la interacción de las variables de entrada y los parámetros de proceso para demostrar el cumplimiento de los atributos de calidad de un proceso (Rathore, 2009).

Según la Conferencia Internacional de Harmonización ICH Q8 (R2), un espacio de diseño puede definirse en términos de intervalos de atributos de materiales y de procesos, y el nivel de parámetros, o a través de relaciones matemáticas más complejas.

- Función dependiente del tiempo (por ejemplo temperatura y presión, en un ciclo de liofilización).
- Combinación de variables como componentes principales de un modelo multivariable.

Si se quiere extender a escalas operativas múltiples, deben incluirse factores de escalado. También puede incluirse un análisis de datos históricos.

De hecho, se espera que, independientemente de cómo se desarrolle, el trabajar dentro del espacio de diseño proporcione un producto que cumpla siempre con sus especificaciones.

Las etapas de la construcción del espacio de diseño (Osorio, 2011), son tres etapas principalmente:

- La primera etapa consiste en la determinación de los efectos de la variabilidad de las especificaciones de calidad y del desempeño del proceso a partir del conocimiento adquirido en las etapas de investigación básica, experiencia clínica y de otros productos similares previamente desarrollados.
- La segunda etapa consiste en los estudios de caracterización y el establecimiento de los intervalos de aceptación para cada uno de los parámetros críticos del proceso.
- Finalmente, la última etapa consiste en la evaluación y el análisis de la interacción de los parámetros críticos de proceso para determinar los intervalos.

7.2- PAT (Tecnología Analítica de Procesos) y la validación de limpieza

Un sistema PAT es un sistema para diseñar, analizar y controlar la fabricación por medio de mediciones obtenidas en el momento adecuado de atributos críticos de calidad y rendimiento de materiales de partida y en proceso y de procesos, con objeto de garantizar la calidad final del producto (PAT initiative, FDA 2007). Con este sistema se hace hincapié en el empleo de una serie de herramientas tales como sensores de análisis, análisis de datos mono y multivariante y sistemas de gestión de la información que pueden ser sincronizados con el objetivo final de la comprensión, optimización e incluso el control de los procesos (de fabricación o de limpieza).

Estas herramientas también podrían usarse como complemento de la validación de limpieza o para optimizar el proceso en tiempo real, para ello se requiere identificar previamente los parámetros que indican la limpieza del equipo o sistema. La idea es que como los procedimientos actuales son fijos o estándares, seguramente será posible reducir tiempos de limpieza en una fase de rutina al hacerlos específicos para cada proceso.

Si bien requiere el esfuerzo previo de adaptación a la automatización, supone tener un resultado del análisis a tiempo real y un control automatizado que ajusta las condiciones del proceso para que el resultado en el producto final se mantenga constante. Supone trasladar las herramientas analíticas en línea para acelerar y simplificar la verificación de limpieza y mejorar los resultados de validación. Con ello se gana un conocimiento profundo del proceso optimizado, siendo la mejor ventaja que no interfiere o interrumpe el proceso.

De hecho un ejemplo PAT son los sistemas CIP que se usan desde hace años en la industria farmacéutica (Hyde, 2007).

Está claro que la aplicación de las herramientas PAT va a facilitar optimizar los procesos tales como reducir recursos y tiempo (Hellings, 2008), ya que ayudan a detectar los parámetros críticos y controlarlos. Una vez establecidos se podrá constatar la constancia de los datos y llevar a cabo la validación.

7.2.1- Técnicas analíticas que utilizan las tecnologías PAT para la validación de limpieza

Los tipos de medidores PAT que se pueden utilizar para verificar la limpieza después de la finalización del ciclo del CIP suelen incluir medidores de conductividad o pH para medir el producto de limpieza residual, equipos TOC para medir los residuos de productos o los residuos del agente de limpieza, o detectores UV para determinar absorbancia para los residuos de proteína (Ver tabla 15) .

No obstante, hay dos técnicas DART (Direct Analysis In Real Time) que se están aplicando desde hace menos tiempo a la validación de limpieza, éstas son IMS (Ion Mobility Spectrofotometry) e ITMS (Ion Trap Mobility Spectrofotometry), si bien estos equipos no son nuevos ya se usan desde hace cierto tiempo para detectar narcóticos y explosivos (industria de seguridad) en el control de explosivos en los aeropuertos. La técnica se basa en la rapidez con que se mueven los iones a través de un conductor gaseoso bajo la influencia de un campo eléctrico. Es capaz de detectar compuestos pequeños y productos farmacéuticos. Ambas fueron unas de las primeras técnicas de ionización que no requieren preparación de muestras. Esto abre una ventana nueva de la gama de compuestos que pueden ser analizados por espectrometría de masas ya que la ionización puede tener lugar directamente sobre la superficie de la muestra.

Por otra parte, IMS es mucho más rápido y más exacto que los métodos de HPLC y el carbono orgánico total (TOC) utilizado anteriormente (Eicman y Karpas, 2005).

TÉCNICA ANALÍTICA	CARACTERÍSTICAS Y/ O VENTAJAS DE LA TÉCNICA	REFERENCIA
IMS/ITMS	-Off-line -Test en 10 min, no deja residuo, no exige preparación de muestra	(Eicman y Karpas, 2005) (Brand, 2009)
Fibra óptica con mid-IR	-Espectrofotómetro que puede detectar directamente sobre la superficie el residuo (API, detergente o mezcla) -Test en 30 min, detecta espesor de capa en $\mu\text{g}/\text{cm}^2$	(Mehta, 2002)
Inspección visual remota	-Cámaras con luz UV dentro del tanque, detecta brillos de solución de riboflavina -Para zonas localizadas del equipo: video o fotos para comparación con patrón de limpio.	(Salvo Hipólito, 2002)
UV	-Analizador diodo-array de doble haz equipado con fibras resistentes y cubetas de 10 mm en línea. Se obtiene el espectro.	(Bakeev, 2005)
Sensores de T ^a , flujo, presión	-CIP	(Schiffmann, 2000)
Conductividad, pH	-CIP	(White, 2005)
NIR	-Swab identificado directamente en el equipo NIR	(Rohe, 1999)
TOC	-Incorporado al equipo	(Penny, 2004)

Tabla 15: Técnicas analíticas utilizadas en sistemas PAT para la verificación de la limpieza

El PAT-NIR (Penny, 2004) se basa en la exploración directa de hisopos por NIR, utiliza el alcohol como disolvente y supone una rápida preparación de la muestra ya que no requiere la extracción del algodón en la solución de ensayo (suele ser una fuente de error y de consumo de tiempo) y se aumenta el número de compuestos que pueden ser analizados.

Está claro que una implementación progresiva de PAT para la validación de la limpieza ayudará a desarrollar mejores procesos de limpieza, y más eficientes (con menor gasto de detergente, agua y tiempo).

Pero esto debe realizarse paso a paso (tabla 16). En primer lugar cabría utilizar los métodos analíticos (off-line) PAT para monitorizar y reducir el tiempo de limpieza. En definitiva optimizar.

Segundo paso: monitorizar el proceso de limpieza (at line) ahora el equipo analítico está al lado del equipo, sirve para controlarlo.

Tercer paso: el equipo es gestionado automáticamente por el equipo PAT, el proceso se libera inmediatamente al acabarse por el propio sistema automatizado.

FASE		Resultado
Fase I	Uso de analizadores (IMS, DART, UV, NIR..) para visualizar y ganar conocimiento del proceso.	Optimización del proceso de limpieza
Fase II	Monitorización en rutina del proceso de limpieza optimizado (“at-line”, el equipo no es dirigido por PAT todavía).	Liberación tras comprobar el operador el cumplimiento del parámetro control.
Fase III	Análisis de la limpieza on-line durante el propio proceso. Autoregulación y control a tiempo real del proceso de limpieza.	Liberación inmediata del equipo limpio Validación lote a lote

Tabla 16: Metodología progresiva de implementación de PAT en la validación de limpieza(Rezkellah, 2011)

En la figura 21 se representa la aplicación de PAT a la validación de la limpieza. En un principio estas técnicas analíticas sirven para controlar y monitorizar el proceso de limpieza. A partir de esta monitorización es posible establecer el espacio de diseño para el proceso de limpieza (que relaciona los parámetros como temperatura, presión, tiempo, % detergente con el indicador analítico pH, TOC, etc). Al disponer del espacio de diseño específico para cada producto, el proceso de limpieza es más efectivo y permitirá un control del 100 % del proceso que se libera cuando se alcanza el límite preestablecido y no cuando pasa cierto tiempo estandarizado.

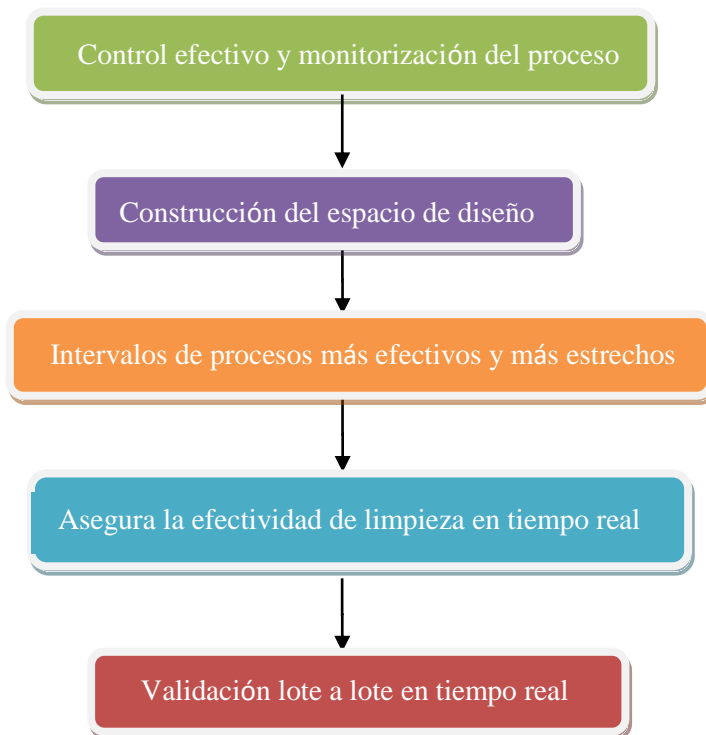


Figura 21: Evolución y futuro de la aplicabilidad de los métodos analíticos PAT a la validación de limpieza.

7.3- Liberación paramétrica para la limpieza

La liberación paramétrica como la define la Organización Europea para la Calidad, es un sistema de liberación que ofrece la garantía de que el producto posee la calidad deseada basándose en la información recogida durante el proceso de fabricación y en el cumplimiento de las exigencias específicas de las NCF relacionadas con la liberación paramétrica (Anexo 17 EU-GMP, 2001).

La liberación paramétrica se basa en el seguimiento en tiempo real de los parámetros críticos del proceso (CPPs), así se puede detectar el fallo antes de la fabricación del lote siguiente. Aplicando esta herramienta a la validación de limpieza, la liberación paramétrica se puede describir como una buena alternativa al control periódico que nos puede proporcionar varios beneficios (Sachznez, 2009)tal como:

- Reducción del tiempo y del coste de ciclo de desarrollo
- Ciclos de limpieza más eficientes, eficaces y coherentes
- Alto nivel de garantía de limpieza

Adicionalmente su aplicación podría eliminar la necesidad de validar 3 veces el proceso de limpieza (Robin, 2004).

Para que un equipo se pueda liberar en tiempo real, los experimentos a pequeña escala deben dar por encima de las especificaciones de rendimiento bajo las peores condiciones de trabajo, y los CPPs deben ser controlados dentro de sus respectivos intervalos aceptables. Si los experimentos a pequeña escala no cumplen con los requisitos de rendimiento, la duración del lavado cáustico y los pasos de enjuague podrían ampliarse hasta que los criterios de desempeño se cumplan. Además un excedente de alrededor del 20% se añade a la duración a escala completa para dar cuenta de los errores asociados con la instrumentación, variabilidad de las materias primas y los equipos sobre el ciclo de vida del proceso (Sharnez, 2009).

7.4- Lean manufacturing y validación de limpieza

Lean manufacturing es la combinación de los mejores procesos y prácticas, para optimizar recursos y proporcionar el mejor producto, en el menor tiempo y al menor coste. Lean es un componente de la TQM (Total Quality Management), mejora continua, cero defectos, seis sigma y otras herramientas que implican hacer lo correcto, en el tiempo adecuado, en el lugar adecuado, en cantidad adecuada y haciéndolo bien a la primera (Rezkellah, 2011).

Lean se focaliza en el flujo de producción, defiende el valor desde el punto de vista cliente y se basa en la eliminación de desperdicios y en el trabajo con un inventario mínimo, usando todas las capacidades de trabajo de la empresa, buscando ciclos de tiempo rápidos y la optimización del producto por grupos de productos (líneas de productos). De hecho Lean es una manera de hacer general, principalmente aplicado a la producción y los principios son claros:

Eliminar desperdicio, reducir inventario y producir eficiente y económicamente productos de alta calidad. Si se consigue mejorar, monitorizar y controlar el proceso en tiempo real se están cumpliendo los preceptos de Lean (Greb, 2008).

A nivel de validación de limpieza la implementación del Lean vuelve a estar relacionada con la utilización de las herramientas PAT y CIP.

8-Validación del método analítico

8.1- Desarrollo y validación de los métodos analíticos utilizados para la determinación de los residuos por UPLC /HPLC

Una definición específica de validación analítica (AEFI, 2001), indica que es el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento analítico conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos.

Para realizar la validación se han de seguir las pautas marcadas bien por la USP 37 o bien por la ICH Q2(R1). Si bien son directrices que no describen específicamente cómo realizar cada uno de los parámetros a estudiar, ni tampoco los límites a tener en cuenta, son directrices que van encaminadas a marcar el número de muestras a analizar para cada parámetro dejando la puerta abierta en cuanto a como se han de preparar estas muestras. Debido a que ninguna de las directrices nombradas anteriormente especifican los límites que han de cumplir los parámetros a estudiar, estos se marcan según el sistema de calidad implantado en el laboratorio. Sin embargo la mayoría de laboratorios intentan seguir unos criterios comunes y de esta forma uniformizar los límites establecidos.

Por último decir que el estudio de validación realizado está en vigor, bien hasta que se realice alguna modificación en el método, bien hasta que se cumpla el plazo de validez establecido en el protocolo o plan de validación.

Todas estas reflexiones ponen de manifiesto la importancia que tiene el estudio de validación de un método analítico.

En el desarrollo de un nuevo método analítico (como es el caso) y posterior validación, se han de seguir una serie de fases, fases que si bien no vienen descritas en ninguna guía, se describen a continuación en el orden que parece más lógico (AEFI, 2001; IQS, 2000):

a) Características de practicabilidad

A la hora de desarrollar un método se ha de tener muy en cuenta las características que evalúan la posibilidad de implementación en rutina del método analítico. Dichas características se refieren por ejemplo al tiempo de elución, coste, tamaño de la muestra necesaria, equipo, cualificación del personal, condiciones de seguridad, etc. Si estas características no se tienen en cuenta, el desarrollo de la metodología analítica para posteriormente aplicarla en rutina, pierde el sentido.

b) Estudios de estabilidad de la muestra

Otra de las fases previas al inicio del estudio de validación y que se estudia durante el desarrollo de la metódica es la estabilidad de las diferentes soluciones que se preparan y que forman parte de la metódica en estudio. Al desarrollar este estudio se obtiene una información muy valiosa en cuanto al tiempo que las diferentes soluciones preparadas pueden permanecer inalteradas, antes de considerarlas como no aptas. Esta información ha de quedar reflejada en el protocolo de análisis de la metódica analítica definitiva (AEFI, 2001).

c) Características de idoneidad

La idoneidad es otro parámetro a tener en cuenta en el desarrollo de un método analítico. Las características de idoneidad se refieren a un conjunto de parámetros que garantizan que el sistema responde a los requisitos fijados y que se han de mantener a lo largo del uso de la metódica analítica (AEFI, 2001). Para definir estas características, se usa el estudio de robustez (BOE nº103, 1085), que por una parte se utiliza para optimizar el método y por otra parte para ver la criticidad del valor de los parámetros antes de validar. Estas características de idoneidad quedan recogidas dentro del ensayo de idoneidad o “system suitability test”.

d) Características de fiabilidad

La última fase a tener en cuenta se refiere a las características de fiabilidad, características que demuestran la capacidad de un método analítico para mantener a lo largo del tiempo los criterios fundamentales de validación: selectividad, linealidad, precisión, exactitud y sensibilidad, criterios que dan pie a los diferentes parámetros de validación (AEFI, 2001).

La **selectividad** determina la capacidad de un método para determinar el analito sin interferencias de ningún tipo. La **linealidad** e intervalo dan información sobre la proporcionalidad entre la concentración del analito y la respuesta obtenida. Otro parámetro fundamental de la validación es la **precisión**, que informa de la dispersión que existe entre los resultados obtenidos alrededor del valor central o valor medio. Muy relacionado con la precisión, se encuentra la **exactitud**, que expresa la diferencia entre el valor hallado en el análisis y el valor teórico o verdadero. El último criterio fundamental de la validación es la **sensibilidad** del método, que está relacionada con la cantidad mínima de analito requerida para obtener un resultado significativo (AEFI, 2001).

A partir de aquí se desarrollan los diferentes parámetros de validación que dependen del tipo de ensayo que se quiera validar. En este aspecto, tanto la USP37 como las ICH Q2(R1) clasifican estos ensayos en diferentes categorías y en función de estas categorías se definen los diferentes parámetros a realizar, necesarios para cada uno de los ensayos. Según la USP 37, los métodos de análisis se pueden dividir en 4 categorías para cada una de las cuales se

realizarán unos u otros parámetros de validación (Tabla 17). La categoría 1 se refiere a los métodos de análisis para la cuantificación de componentes mayoritarios (ya sean principios activos o conservantes), tanto en materia prima como en el producto farmacéutico final. En la categoría 2 quedan incluidos aquellos métodos analíticos destinados a la determinación de impurezas y productos de degradación, tanto en materia prima como en producto acabado. Dentro de esta categoría se incluye tanto los ensayos de cuantificación, como los ensayos de test límite. En la categoría 3 se incluye todos aquellos métodos destinados a la realización de pruebas de comportamiento galénico. Por último, la categoría 4 se refiere a los tests destinados exclusivamente a la identificación de cualquier componente.

PARÁMETROS VALIDACIÓN	CATEGORÍAS				
	Categoría 1	Categoría 2		Categoría 3	Categoría 4
		Cuantitativo	Test límite		
Exactitud	SI	SI	*	*	NO
Precisión	SI	SI	NO	SI	NO
Especificidad	SI	SI	SI	*	SI
Límite Detección	NO	NO	SI	*	NO
Límite Cuantificación	NO	SI	NO	*	NO
Linealidad	SI	SI	NO	*	NO
Intervalo	SI	SI	*	*	NO
Robustez	SI**	SI**	SI**	SI**	SI**

*Puede ser necesario en función de la naturaleza del test.

** Aunque la robustez se ha incluido aquí como un parámetro más de la validación, se recomienda como se ha ido comentando anteriormente realizar el estudio de robustez previo al inicio de la propia validación.

Tabla 17: Clasificación de las diferentes categorías y parámetros de validación según la USP 37.

Según queda descrito en las guías ICH Q2(R1), los métodos analíticos se dividen en 3 categorías. Una primera categoría de ensayos de identificación, una segunda categoría que incluye la determinación de impurezas y productos de degradación que al igual que lo descrito en la USP 37 se subdivide en ensayos cuantitativos y test límite. La última categoría incluye todos los ensayos de valoración ya sea de contenido o de un ensayo de disolución. Al igual que sucede en lo descrito en la USP 37, para cada uno de estos ensayos se determinan los parámetros de validación necesarios, según queda reflejado en la tabla 18.

PARÁMETROS VALIDACIÓN	TIPOS DE ENSAYOS			
	Identificación	Impurezas		Valoración: - Disolución - Contenido
		Cuantitativo	Test límite	
Exactitud	NO	SI	NO	SI
Precisión				
Repetibilidad	NO	SI	NO	SI
Precisión intermedia	NO	SI	NO	SI
Selectividad	SI	SI	NO	SI
Límite detección	NO	NO	SI	NO
Límite cuantificación	NO	SI	SI	NO
Linealidad	NO	SI	NO	SI
Intervalo	NO	SI	NO	SI

Tabla 18: Clasificación de las categorías de los ensayos y parámetros de validación según las guías ICH.

8.2- Definición de los parámetros de validación

8.2.1- Selectividad

Capacidad para medir exacta y específicamente sin interferencias de impurezas de síntesis, productos de degradación, sustancias relacionadas, disolventes o excipientes que pueden estar presentes en la muestra.

8.2.2- Linealidad

Capacidad de un procedimiento analítico para obtener, dentro de un intervalo determinado, resultados directamente proporcionales a la concentración (cantidad) de analito en la muestra.

8.2.3- Precisión

Es el parámetro que expresa el grado de concordancia (grado de dispersión) entre una serie de medidas obtenidas de tomas múltiples a partir de una misma muestra homogénea en las condiciones prescritas.

El objetivo del estudio de la precisión es conocer la variabilidad o el más-menos del método de ensayo. Esta variabilidad es debida a errores aleatorios inherentes a todo método de ensayo. Como consecuencia de la existencia de estos errores, los análisis efectuados sobre muestras idénticas, en las mismas circunstancias, no conducen generalmente a resultados

idénticos. Los factores susceptibles de influir sobre los resultados de un ensayo no pueden ser siempre controlados (analista, equipo instrumental, reactivos, tiempo, etc) de aquí la importancia del estudio de precisión.

La precisión engloba diferentes tipos de estudios:

a) Repetibilidad del sistema instrumental

Capacidad del instrumento para reproducir sus propias medidas. Relacionado con el grado de precisión del instrumento. Se demuestra con resultados de inyecciones consecutivas de la misma muestra.

b) Repetibilidad del método

Grado de precisión entre los resultados individuales del ensayo, realizado repetidamente sobre una muestra homogénea. Cada uno de los resultados individuales obtenidos procede de un análisis completo. Se demuestra con inyecciones consecutivas de diferentes muestras, según se indica en el método de valoración.

c) Precisión intermedia del método

Grado de precisión de los datos obtenidos por un mismo analista en diferentes días y por analistas diferentes. Se comprueba con inyecciones consecutivas de muestras preparadas desde un principio en diferentes días por un mismo analista e inyecciones de muestras preparadas por dos analistas diferentes.

8.2.4- Exactitud

Capacidad del sistema para ofrecer resultados próximos al verdadero. Es una medida del rigor del método analítico y refleja los posibles errores sistemáticos del método. Con este parámetro se establece la capacidad de recuperación del principio activo en la forma farmacéutica en solución que presenta la metodología analítica aplicada.

8.2.5- Intervalo de análisis

Intervalo máximo y mínimo de concentración del analito en la muestra (incluyendo estas concentraciones máximas y mínimas), dentro del cual se demuestran los criterios de precisión, exactitud y linealidad, verificando que el método analítico funciona correctamente.

8.2.6- Idoneidad del sistema

Comprobación efectuada en un sistema cromatográfico para verificar que la resolución y la reproducibilidad del sistema es la adecuada para el análisis que se realiza junto antes de hacer el mismo.

8.2.7- Robustez

Grado de reproducibilidad de los resultados obtenidos en el análisis de las mismas muestras bajo una variedad de condiciones normales. Se expresa como la falta de influencia de las variables operacionales sobre los resultados. Los resultados obtenidos bajo diferentes condiciones se han de poder relacionar entre sí (sin diferencias estadísticamente significativas).

El parámetro robustez, aún estando descrito como un parámetro de validación tanto en las guías ICH Q2(R1) como en la USP 37 NF 32(2014), no lo incluyen dentro de los parámetros a estudiar dentro de cada una de las categorías descritas, dejando este ensayo como opcional. Sin embargo se trata de un ensayo que aporta mucha información previa al propio estudio de validación, por lo que se considera un ensayo fundamental a realizar. Por una parte sirve para determinar los puntos críticos de la metodología analítica, optimizando ésta finalmente (optimización de los parámetros de idoneidad) y por otro lado sirve para ver como después de pequeños pero deliberados cambios en la metodología no afecta al resultado en cuanto a la riqueza obtenida para el principio activo en el producto acabado.

Por otro lado el término robustez (*Robustness*) no debe confundirse con el término *Ruggedness*. Este último no viene descrito en las guías ICH Q2(R1) y sí en la farmacopea USP 37. Ésta define el término de *Ruggedness* como el grado de reproducibilidad de los resultados mediante el análisis de las mismas muestras bajo una variedad de condiciones tales como diferentes laboratorios, diferentes analistas, diferentes instrumentos, lotes de reactivos, días, tiempos, diferentes temperaturas, etc. Es decir, se sigue el método analítico dentro de los parámetros especificados en él, pero introduciendo en las condiciones experimentales las variaciones habituales de laboratorio a laboratorio. Da una idea de la influencia que tienen las variables ambientales y operacionales del método en los resultados, por lo que podría asimilarse al término “reproducibilidad” descrito en las guías ICH respectivas.

PARTE EXPERIMENTAL

MATERIALES Y MÉTODOS

Para llevar a cabo el trabajo se llevan a cabo las siguientes fases o metodologías; cada una de ellas implica el uso de materiales específicos que se explicitan por partes en la metodología a seguir: (ver figura 22)

Mediante la metodología del Risk Ranking and Filtering:

- Evaluación de los APIs y selección del peor caso, por recopilación de los datos;
- Evaluación de los equipos y selección del peor caso.

Mediante la metodología del FMEA:

Selección de los puntos de toma de muestras de residuos y a partir de estos resultados se desarrollan las siguientes fases:

- Establecimiento del método de muestreo;
- Determinación de los límites de residuos en la superficie;
- Desarrollo y validación del método de análisis;
- Estudio del factor de recuperación en el caso del muestreo con Swab;
- Optimización del procedimiento de limpieza;
- Realización del estudio de validación y documentación de los resultados;
- Comprobación y cálculo del Hold time;
- Propuesta de espacio de diseño;
- PNT final.

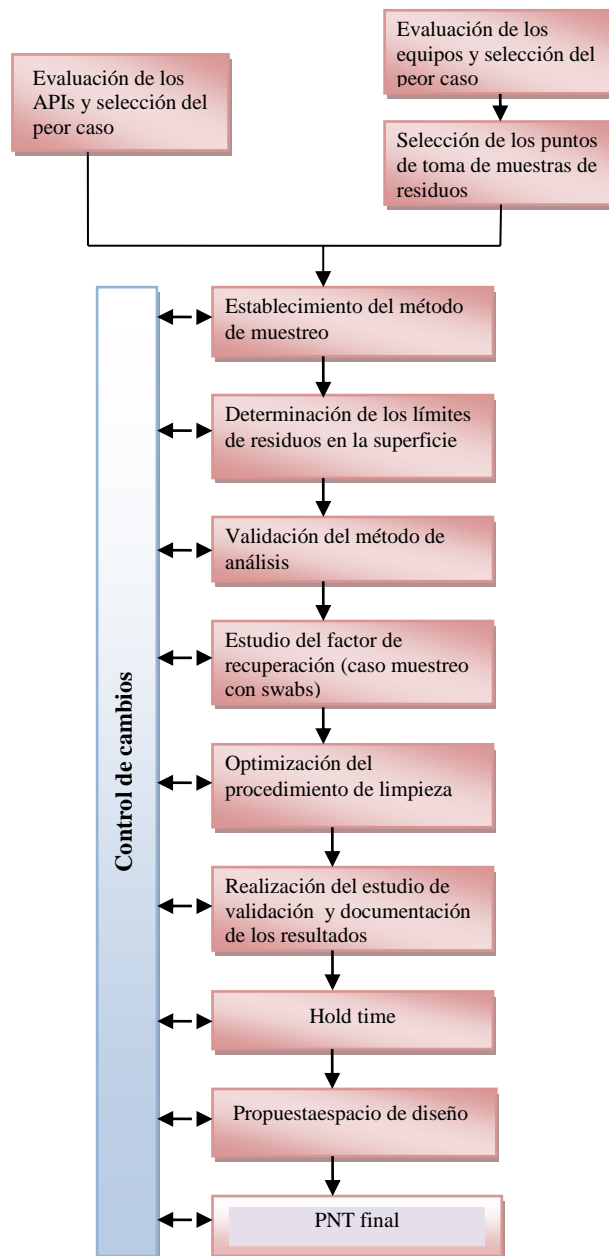


Figura 22:Diagrama de flujo del proceso de validación de limpieza

1- Evaluación de los equipos y APIs y selección del peor caso

1.1- Recopilación de datos sobre el uso de los equipos y sobre los APIs

La recopilación de los datos se hace a través de un estudio retrospectivo de las libretas de los equipos y de los proyectos y servicios. Se hace una revisión que abarcará desde los años 2000 a 2010. Tanto para los equipos como para los APIs, se crean tablas con las siguientes informaciones:

1.1.1 - Los equipos

- 1- **Desmontaje:** Se determina si el equipo es totalmente desmontable, parcialmente o no desmontable. Se mide exactamente la superficie del equipo que entra en contacto con el API para determinar si es grande, mediana o pequeña y poder hacer los cálculos relativos.
- 2- **Frecuencia de uso:** Se determina si el equipo se usa con frecuencia o no.
- 3- **Facilidad de limpieza:** Se estudia si la superficie del equipo es lisa o rugosa.
- 4- **Puntos muertos:** Se determina si el equipo contiene puntos de difícil acceso para ser limpiados o no.
- 5- **El material de composición:** Se determina la naturaleza del material de construcción del equipo de fabricación (aluminio, acero inoxidable, plástico...).

Para cada parámetro de los mencionados anteriormente, se hace una valoración de la criticidad del parámetro y se aplica la ponderación detallada en la tabla 19.

Parámetros	Grado de riesgo	Características	Factor	
Desmontaje	3	Totalmente	0,25	
		Parcialmente	0,50	
		No	0,75	
Frecuencia de uso	4	Casi cada día	1	
		Mucho (1/semana o más)	0,75	
		Regular (1/1-2 meses)	0,50	
		Poco (1-2/año)	0,25	
Facilidad de limpieza	2	Liso	0,25	
		Poroso (grueso)	0,75	
Puntos muertos	2	No	0	
		Sí	Accesibles	0,50
			No accesibles	0,75
Tipo material	2	Acero inoxidable	0,25	
		Acero inoxidable + otro material	0,50	
		Otro material	0,75	

Tabla 19: Los parámetros del equipo y su factor asignado según riesgo.

1.1.2- Los principios activos

Para cada API utilizado hasta el momento en la planta se hará un estudio de las siguientes características:

- Toxicidad (NOAEL, LD₅₀...)
- Solubilidad (alta, media o baja)
- Forma farmacéutica (Semisólida, sólida o líquida)
- Dosis terapéutica mínima del principio activo
- Posología máxima diaria del principio activo.

Y de todos los APIs recopilados, se hace una clasificación según la toxicidad en base a la clasificación de (Gosselin et al.) y (Deichman y Gerarde) (ver tablas 20 y 21). Así, se identifica el producto o API peor caso que va servir como modelo para demostrar que los procesos de limpieza son los adecuados.

Grupo	Grados de toxicidad	Dosis letal en Humanos (mg/Kg)
1	Prácticamente no tóxico	>15000
2	Muy poco tóxico	5000-15000
3	Moderadamente tóxico	500-5000
4	Muy tóxico	50-500
5	Extremadamente tóxico	5-50
6	Supertóxico	<5

Tabla 20: Clases de toxicidad(Gosselin et al. 1984).

Grupo	Rangos de toxicidad	Vía oral, dosis única rata LD50*
1	Extremadamente tóxico	<1 mg/Kg
2	Altamente tóxico	1-50 mg/Kg
3	Moderadamente tóxico	50-500 mg/Kg
4	Ligeramente tóxico	0,5-5 g/Kg
5	Prácticamente no tóxico	5-15 g/Kg
6	Relativamente inocuo	>25 g/kg

*LD50:La dosis letal media. Es la dosis única obtenida estadísticamente, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte del 50% de los animales a los que se haya administrado.

Tabla 21:Intervalos de toxicidad según Deichman y Gerarde, 1969.

1.2- Risk ranking and filtering (RRF)

Aplicación de la técnica RRF (*Risk Ranking and Filtering*) de gestión de riesgo para determinar de forma priorizada los equipos que requieren una validación prioritaria, en base a una serie de factores y grado de riesgo (criticidad) previamente establecidos y cuantificados como son: tipo de material, desmontaje del equipo, puntos muertos, facilidad de limpieza y superficie.

Para el cálculo del RRF se usa la fórmula siguiente:

$$RRF = F_D.3 + F_U.4 + F_L.2 + F_{PM}.2 + F_M.2$$

Siendo F_D : Factor desmontaje

F_U : Factor frecuencia de uso

F_L : Factor facilidad de limpieza

F_{PM} : Factor puntos muertos

F_M : Factor tipo material

2- Selección de los puntos de toma de muestra de residuos

Se aplica la técnica FMEA (*Failure Mode and Effects Analysis*) (Mollah, 2004) de gestión de riesgo para la determinación de los puntos críticos de los equipos clasificados como de riesgo elevado (según RRF previo) por eso habrá que determinar los puntos críticos que serán los puntos a muestrear y que deben constar en el PNT del equipo (Stamatis, 1995).

3- Muestreo

El método más aconsejable según la Guía de Inspección y Procesos de Validación de Limpieza de la FDA es el de muestreo directo de las superficies de los equipos con hisopos húmedos (Chudzik, 1998; Shifflet y Shapiro, 2002). Es el método que se utiliza en este trabajo, dada la facilidad que ofrece para la toma de las muestras de manera directa sobre la superficie. Se escogen varios puntos a muestrear entre los de acceso normal y difícil. Se utiliza una plantilla con un cuadrado de 5 cm de lado para poder muestrear una superficie total de 25 cm², excepto en algunos puntos críticos donde se utiliza la superficie completa de la pieza ya que no se pueden adaptar al cuadrado de muestreo.

Las superficies estudiadas se muestrean con dos swabs porque se ha demostrado que da una mejor recuperación (Yang, 2005), el primero impregnándolo en 10 mL de fase móvil para HPLC (60 % SR / 40 % de acetonitrilo del método analítico validado) y el segundo seco.

El método es el siguiente:

1. Pretratamiento del swab (swab de poliéster Alpha® Sampling Swab Taxwipe TX714K (figura 23) en 10 mL de fase móvil para HPLC, apretar (escurrir) el swab.
2. Pasar el swab por la superficie a estudiar por un lado en la dirección horizontal, y con el otro lado en la dirección vertical (ver figura 14 apartado 5.3.4 de bibliografía).
3. Cortar la cabeza del swab apretando suavemente contra el tubo de vidrio. La cabeza queda en el tubo, se retira el plástico.
4. Repetir la etapa n°2 con un swab seco.
5. Introducir los dos swabs en el recipiente con el disolvente
6. Se deja agitar 10 min en ultrasonidos.
7. Filtrar y analizar por HPLC.



Figura 23: Swab utilizado en el estudio

4- Cálculo de los criterios y determinación del límite de aceptación

Se hace el cálculo en base a cuatro criterios, son: dosis terapéutica, presencia de trazas, criterio organoléptico y umbral de preocupación toxicológica TTC, y se escoge el límite más estricto que representa la concentración teórica máxima permitida en la validación de los procesos de limpieza. En este estudio no se ha tomado en cuenta el límite relacionado al PDE porque es un tema que todavía no está bien desarrollado y necesita un experto toxicólogo dado el número de principios activos bajo estudio en la planta piloto SDM y la falta de bases de datos oficiales relacionadas al NOAEL.

La tabla 22 da un resumen de los cuatro métodos y su fórmula de cálculo.

Criterio	Fórmula de cálculo	
Dosis terapéutica	$Qd = d/D1000 * T/\text{área del equipo}$	d: Dosis terapéutica mínima diaria de producto contaminante A (mg de principio activo/día) T : Tamaño de lote del producto posterior D: Posología máxima diaria de los productos posteriores
Presencia de trazas	$Qd = 10 \text{ ppm } T/\text{área del equipo}$	Qd: cantidad de contaminante permitido en la sustancia posterior (mg/cm ² o mL) T : Tamaño de lote del producto posterior
Criterio organoléptico	4-20 µg/cm²	—
TC "Umbral de preocupación toxicológica"	1 µg por día para los principios activos sospechosos de ser cancerígenos. 10 µg por día para activos que no son cancerígenos pero son potentes o muy tóxicos. 100 µg por día para activos que no son potentes y ni muy tóxicos.	—

Tabla 22: Los diferentes criterios empleados en el cálculo del límite de aceptación.

A partir de todo encontrado, este se extrapolará para transformar dicho límite a una concentración de trabajo (µg/mL), concentración que será de partida para el desarrollo y posterior validación de la metodología analítica a utilizar.

5-Desarrollo y validación de los métodos analíticos utilizados para la determinación de los residuos por UPLC /HPLC

5.1- Equipo cromatográfico

Cromatógrafo Dionex Ultimate 3000 (Figura 24) provisto de:

- Horno de columna
- Bomba cuaternaria P680 serie 1310605
- Desgasificador sol 100 serie 4880404
- Inyector automático WPS 3000 serie 8002827
- Detector UVD 340U serie 2440103
- Software : Chromeleon data system versión 6.8U SP2 Build 2284 serie 794



Figura 24: Cromatógrafo Dionex Ultimate 3000

5.2- Condiciones cromatográficas

El desarrollo del método analítico y por tanto las condiciones cromatográficas se establecerán en función del principio activo que se utilice como trazador o peor caso para la validación de limpieza.

5.3- Parámetros de validación

Los parámetros de validación a estudiar son los que se detallan a continuación.

5.3.1- Estabilidad de la solución

Para el estudio de estabilidad de la solución se prepara una solución de quetiapina fumarato correspondiente al 100% del límite de aceptación, que se inyecta a diferentes tiempos, cada hora durante las seis primeras horas, luego a las 12 horas, 24 horas, 48 horas y 144 horas. Transcurrido el tiempo se analizan los resultados obtenidos para observar si durante este tiempo las muestras han sido estables o no.

5.3.2- Selectividad

El estudio de selectividad se divide en diferentes apartados, todos ellos encaminados a demostrar que el principio activo que se utiliza como trazador, eluye a un tiempo de retención donde ninguna otra sustancia, ya sea disolventes, detergente, o componentes del swab o de la placa que se van a utilizar en el estudio no interfieren con él.

5.3.3- Identificación del principio activo

La identificación del principio activo se lleva a cabo con la inyección de una solución preparada a la concentración de trabajo y evaluando el espectro obtenido con el detector de diodo array.

5.3.4- Ausencia de interferencias con el principio activo

Para la realización de este estudio, se preparan varias muestras de: fase móvil, swab, placa que se inyectan en el cromatógrafo previa filtración por filtros PVDF de 0,45 micrómetros. Con estas soluciones se pretende demostrar que no existe interferencias por parte de los componentes del swab, placa, disolvente con la elución del principio activo trazador.

5.3.5- Linealidad

Para la realización de la linealidad, se realizan tres curvas de 13 puntos y que corresponden al 6,25%, 12,5%, 25%, 37,5%, 50%, 62,5%, 75%, 87,5%, 100%, 112,5%, 125%, 137,5% y 150 % de la concentración de trabajo. Dichas concentraciones se obtienen por pesadas individuales para cada nivel de concentración.

De las soluciones obtenidas se preparan viales para el cromatógrafo, filtrando previamente por filtros de PVDF. Cada una de estas muestras se inyectan en el cromatógrafo por duplicado obteniendo los resultados correspondientes.

5.3.6- Precisión

Para la realización del estudio de precisión se parte del valor nominal correspondiente al 100 % de concentración de trabajo y a partir de este valor se realizan los siguientes ensayos:

a) Repetibilidad del Sistema Instrumental

La solución obtenida en la linealidad, correspondiente al 100%, se inyecta 10 veces de forma consecutiva en el cromatógrafo para observar la posible variabilidad existente entre inyección e inyección y comprobar de esta forma el buen funcionamiento del sistema cromatográfico. Esta misma solución se vuelve a inyectar 10 veces en otro día distinto para, de esta forma, comprobar que el sistema cromatográfico funciona correctamente de un día para otro.

b) Repetibilidad del método

Para la realización de este ensayo se preparan 7 soluciones de forma individual correspondientes al 100 % según la metodología desarrollada. Además se preparan 3 soluciones al límite de cuantificación y 3 soluciones al 150%.

c) Precisión intermedia

La metodología seguida en este estudio corresponde a la seguida para la repetibilidad del método, teniendo en cuenta sólo las muestras correspondientes a la concentración de trabajo (100%). En este estudio se trata de comparar por un lado los resultados obtenidos por un analista que realiza el ensayo en dos días diferentes y por otro lado los resultados obtenidos por dos analistas diferentes que siguen el mismo procedimiento. De esta forma se pretende demostrar la variabilidad existente cuando se trabaja en días diferentes o bien cuando son dos personas las que trabajan sobre un mismo producto.

5.3.7- Robustez

Para el estudio de robustez, se preparan tres soluciones individuales y un patrón a la concentración de trabajo. Estas muestras se someten a pequeñas pero deliberadas variaciones en las condiciones cromatográficas, tal y como queda reflejado en la tabla 23.

Condiciones cromatográficas	Por encima del valor nominal	Por debajo del valor nominal
Longitud de onda (nm)	+5 nm	-5 nm
Temperatura (°C)	+5° C	-5° C
Caudal (ml/min)	+0,2	-0,2
Fase móvil % (acetonitrilo/SR)	+5 %	-5 %
pH solución reguladora	+0,5	-0,5
Volumen inyección (µl)	+5 µl	-5 µl

Tabla 23: Resumen de las variaciones realizadas en las condiciones cromatográficas para el estudio de robustez.

5.3.8- Exactitud

La exactitud se evalúa mediante el porcentaje de recuperación del principio activo trazador en el swab empleado en la toma de la muestra, se utilizan tres concentraciones que son el límite de cuantificación, 100% y el 150% de la concentración de trabajo, preparando 3 replicados para cada uno de ellos.

Al igual que en los anteriores apartados, una vez obtenidas las soluciones correspondientes, se preparan viales para el HPLC filtrando previamente por filtros de peonza tipo PVDF y con un tamaño de poro de 0,45 micras.

6- Estudio del factor de recuperación

La recuperación del método de muestreo se evalúa adicionando cantidades conocidas del principio activo trazador a una superficie previamente definida (10 x 10 cm²) de dos tipos de material de construcción (acero inoxidable y plástico), efectuando el muestreo sobre las placas, tratando las muestras y posteriormente evaluando el recuperado por el método de control. Se trabaja con tres concentraciones 100% que corresponde al límite establecido, una por encima y otra por debajo del 100% y el ensayo se repite tres; siete y tres veces respectivamente. Se inocula el API sobre la superficie de manera homogénea y se deja secar la placa, se utilizan dos swabs uno mojado y otro seco para recoger la muestra en 10 mL de fase móvil y se deja agitar 10 min en ultrasonidos (Ver figura 25). Se realiza también un blanco, es decir se muestrea otra placa limpia de la misma manera. Los resultados recuperados se comparan con el contenido teórico de patrón preparado para cada concentración.

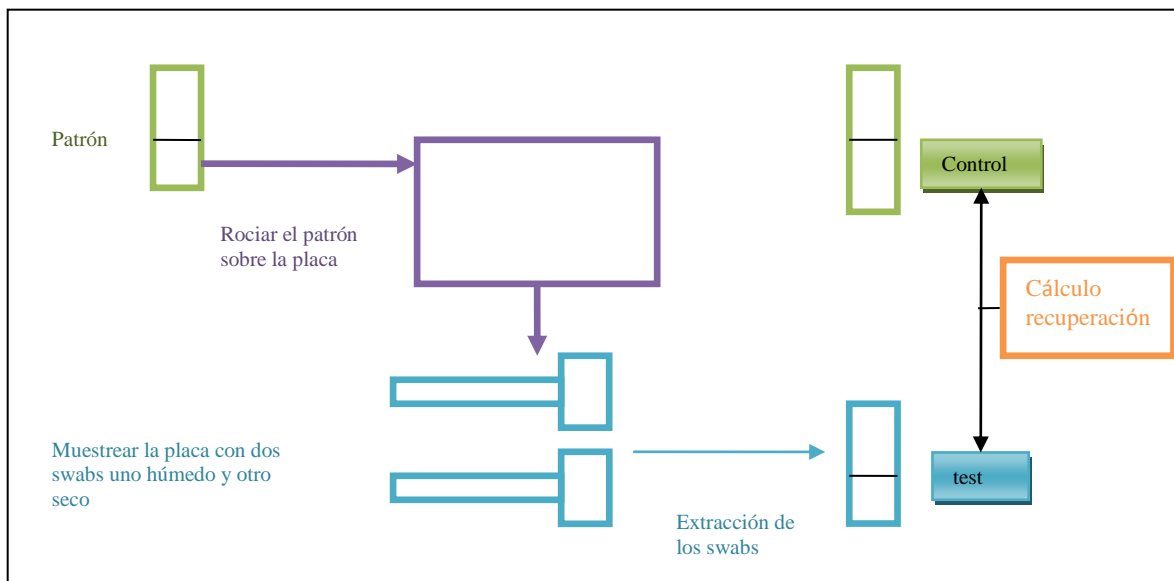


Figura 25: Estudio de recuperación sobre las placas

Preparación del Blanco Swab:

- a. Llenar un vial con el disolvente apropiado.
- b. Introducir el swab dentro del vial.
- c. Escurrir el swab en la pared del vial.
- d. Frotar el swab sobre una placa limpia (10 x 10 cm²) sin carga de API.
- e. Cortar la punta del swab por presión y dejarlo en el vial.
- f. Pasar un segundo swab seco sobre la placa.
- g. Cortar la punta del swab. Ponerla en el vial con la del primer swab.
- h. Poner el tapón con el septum. Agitar 10 min en ultrasonidos.
- i. Analizar el contenido de la muestra: filtrar la muestra y analizar por HPLC.

Preparación de los viales de la solución patrón:

- 1- Preparar la solución patrón con la concentración interesada.
- 2- En una placa de superficie (10 x 10 cm²) y con micropipeta o pipeta poner una cantidad (100-200 µL) que contenga una concentración equivalente al límite de aceptación.
- 3- Dejar secar la placa durante una hora.
- 4- Frotar la placa empleando la misma técnica que con el blanco de swab.
- 5- Repetir el procedimiento por triplicado.
- 6- Analizarlo por el método analítico seleccionado.
- 7- Repetir para cargas superiores e inferiores a la concentración teórica calculada.

Para el cálculo se usa la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{(\text{Cantidad obtenida con solución patrón} - \text{Cantidad obtenida con el blanco}) \times 100}{\text{Cantidad teórica a obtener}}$$

7- Optimización del procedimiento de limpieza

Para optimizar el procedimiento de limpieza propuesto, se estudian aquellos parámetros que pueden afectar a la limpieza. Se lleva a cabo un diseño de experimentos (Rathore & Greene, 2009) (DoE) para deducir las interacciones y factores principales con el fin de determinar el método óptimo de limpieza, se ensayan varios procedimientos de limpieza utilizando diferentes condiciones sobre el equipo a validar. Se estudian cuatro factores principales a saber: la temperatura del agua del enjuague, la concentración del detergente, tiempo de contacto del detergente sobre la superficie y la acción mecánica o tiempo de frotado. En la tabla 24 aparecen los tres niveles ensayados de los cuatro factores y en la tabla 25 los 19 ensayos de limpieza llevados a cabo según el diseño llevado a cabo que corresponden a un diseño de 3⁴ fraccionado. Para el estudio se ha utilizado el programa Statgrafics 5.0 para el análisis estadístico.

Factor	Inferior	Medio	Superior
Detergente (%)	0,0	5,0	10,0
Tiempo de contacto (min)	0,0	5,0	10,0
Temperatura (°C)	34,0	52,0	70,0
Acción mecánica (min)	0,0	0,5	1,0

Tabla 24: Factores principales del procedimiento de limpieza utilizado

Combinación	Detergente %	Tiempo de contacto (min)	Temperatura °C	Acción mecánica
1	10,0	10,0	34,0	0,0
2	10,0	1,0	70,0	0,0
3	10,0	10,0	70,0	1,0
4	0,0	1,0	70,0	0,0
5*	5,0	5,0	52,0	0,5
6*	5,0	5,0	52,0	0,5
7	0,0	1,0	34,0	1,0
8	0,0	10,0	52,0	1,0
9*	5,0	5,0	52,0	0,5
10	10,0	1,0	34,0	0,0
11	0,0,	10,0	70,0	0,0
12	10,0	10,0	34,0	1,0
13	0,0	10,0	34,0	0,0
14	10,0	10,0	70,0	0,0
15	10,0	1,0	34,0	1,0
16	10,0	1,0	70,0	1,0
17	0,0	1,0	34,0	0,0
18	0,0	10,0	34,0	1,0
19	0,0	1,0	70,0	1,0

*Puntos centrales del diseño que se replicaron

Tabla 25: Las diferentes combinaciones de limpieza estudiados en el DOE

8- Tiempo de permanencia (limpio y sucio)

La idea del estudio del tiempo de permanencia limpio es determinar el tiempo máximo del estado de equipo limpio ya que lógicamente el equipo no quedará limpio de forma indefinida a pesar de utilizarlas condiciones adecuadas de almacenamiento.

En cuanto a las condiciones o días que los equipos permanecen "pendientes de limpieza" el PNT del SDM establece no más de dos días en espera, siendo lo habitual un día. Por tanto, se estudia el tiempo de permanencia sucio dejando el equipo sucio durante 1 y 4 días, utilizando dos procedimientos extremos de limpieza (Ver tabla 26) y tomando muestras de las mismas partes del equipo que representan los puntos difíciles de acceso para la limpieza. En estos puntos se determina la carga química y microbiológica.

	Detergente (%)	Tiempo de contacto (min)	Temperatura (°C)	Acción mecánica (min)
Hold time 1 día	0,0	1	34,0	0
Hold time 1 día	10,0	10	70,0	1
Hold time 4 días	0,0	1	34,0	0
Hold time 4 días	10,0	10	70,0	1

Tabla 26: Los procedimientos de limpieza utilizados en el estudio del tiempo de permanencia (Hold time) limpio/sucio.

9- Ensayo microbiológico

Se analizan los 8 puntos escogidos del equipo según la tabla objeto de la validación. Al tener una geometría diferente se utilizan dos métodos de análisis microbiológico. Para los puntos pc 3, 4, 5, 6, 7 se utilizan placas con láminas de agar (laminocultivos Hygicult®), y en el resto de puntos, es decir, los de superficie delimitada, se utilizan escobillones Alpha® (figura 26) humedecidos en solución de peptona tamponada.

La técnica de los laminocultivos, permite examinar superficies de 10 cm², por duplicado, y los medios de cultivos utilizados, fueron agar TPC (Total Plate Count) que significa el recuento total en placa (figura 27) para el recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales (mamt -o TAMC, según Farmacopea Europea 01/2005: 20612) y, agar de malta para hongos Y&F (levaduras y mohos -o TYMC-).

De las muestras obtenidas con los escobillones, una vez extraídas de la solución, también se estudiaron los TAMC (Total Aerobic Microbial Count), sembrando una alícuota de 1 mL en

placas de Petri y añadiendo medio TSA, y medio Sabouraud Dextrosa para el estudio de mohos y levaduras TYMC (Total Yeast and Mould Count).



Figura 26: Escobillones Alpha®



Figura 27: Laminocultivos Hygicult®

RESULTADOS

Se van a exponer los resultados ordenados según las fases listadas en el apartado previo, materiales y métodos.

En el sistema GMP implementado en el SDM, cada equipo dispone de un PNT de funcionamiento y limpieza, para llevar a cabo el estudio se revisan todos los PNT aprobados, existiendo un solo método de limpieza estandarizado, que implica: aspiración o retirada de restos macroscópicos (para productos sólidos), mojado con agua de red y detergente, enjuagado con agua de red y posteriormente con agua desmineralizada y enjuagado final con alcohol desnaturalizado o ácido isopropílico para facilitar el secado. Este es el método a validar.

1 –Evaluación de los equipos y APIs y selección del peor caso

1.1 Evaluación equipos

Se clasifican los equipos por grupos (capsuladoras, comprimidoras, amasadoras...), y para cada uno se elige el más crítico en base a los criterios de peor caso. En la tabla 27, se detallan las características de los equipos de la planta piloto, y a continuación en la tabla 28, se listan los resultados relacionados con el RRF según la metodología explicada en el apartado de metodología.

Nº CQ	EQUIPO	DESMONTABLE x3	MATERIAL x2	FACILIDAD DE LIMPIEZA x2	FRECUENCIA DE USO x4	PUNTOS MUERTOS x2
CE1	COMPRESORA BONALS BR-16	Totalmente	INOX	No	Poca	Accesibles
CE13	COMPRESORA BONALS	Totalmente	INOX	Sí	Mucha	Accesibles
CE2	COMPRESORA BONALS BLANCA	Totalmente	INOX + otromaterial	Sí	Mucha	No
CO13	COMPRESORA RÓTORIA RIVA	Parcialmente	INOX	No	Mucha	Accesibles
CO5	COMPRESORA BONALS BMT 388	Totalmente	INOX + otromaterial	Sí	Mucha	No
CO8	COMPRESORA BONALS PRÁCTIQ	Totalmente	INOX + otromaterial	Sí	Mucha	No
LF2	AMASADORA LANOR HIMMET	No	INOX	No	Poca	Accesibles
SG1	AMASADORA DOBLE SIGMA	No	INOX + otromaterial	No	Muy poca	Accesibles
SG7	AMASADORA DOBLE SIGMA RODES	Totalmente	INOX	No	Muy poca	Accesibles
SG8	AMASADORA TURU AMG AMB CAMIS CALEFACTADA	No	INOX	No	Poca	Accesibles
SG4	AMASADORA RAVENTOS SARDA	Totalmente	INOX + otromaterial	Sí	Poca	No
CR1	BOMBO DE RECUBRIR GLATT	Parcialmente	INOX	Sí	Mucha	No
LI1	LIOFILIZADOR TELSTAR	No	INOX	No	Poca	Accesibles
LF1	LECHO FLUIDO GLATT A6	Totalmente	INOX + otromaterial	No	Mucha	Accesibles
SG20	SECADORA RÁPIDA TG 100	Totalmente	INOX + otromaterial	Sí	Mucha	No
SS7	EMULSIONADORA LLEAL BI-AGI5	Totalmente	INOX	No	Muy poca	No accesibles
SS1	MEZCLADOR EMULSIONADOR STEPHAN	Totalmente	INOX	Sí	Mucha	No
SG5	AMASADORA GRANULADORA LODINGER	Totalmente	INOX	Sí	Muy poca	No
SG6	GRANULADORA HÚMEDOS TURU GRAU	Parcialmente	INOX	Sí	Mucha	No
SG15	GRANULADORA CENTRÍFUGA GLATT	Totalmente	INOX	Sí	Poca	No
SG29	GRANULADORA SCT	Parcialmente	INOX	No	Poca	No
ZE1	MICRONIZADOR DINO-MILL	Totalmente	Otromaterial	No	Muy poca	No
SG9	MICRONIZADOR	Totalmente	INOX	No	Poca	No
SG3	MOLINO DE PUAS LLEAL	Totalmente	INOX	No	Muy poca	Accesibles
SG13	TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	Totalmente	INOX	Sí	Mucha	No
SG14	TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	Totalmente	INOX	Sí	Mucha	No
SG21	TAMIZADORA OSCILLANT BONALS	Totalmente	INOX	Sí	Poca	No
CA5	CAPSULADOR J, BERASATEGUI	Totalmente	Otromaterial	Sí	Poca	No
CA7	CAPSULADOR MACOFAR	Totalmente	INOX	No	Muy poca	Accesibles
SG10	ESFERONITZADOR	Parcialmente	INOX + otromaterial	Sí	Mucha	No
SG11	EXTRUSIONADOR	Totalmente	INOX	Sí	Mucha	No
SG22	ESTUFA DE AIRE FORZADO P SELECTA 297A	Parcialmente	INOX	Sí	Mucha	No
SG25	ESTUFA DE AIRE FORZADO P. SELECTA 371A	Parcialmente	Otromaterial	Sí	Mucha	No
ZE2	DOSIFICADORA INYECTABLES	Totalmente	Otromaterial	No	Muy poca	Accesibles
SS3	ENVASADORA DE SEMISÓLIDOS MINOX	Totalmente	INOX	Sí	Mucha	No
SA5	MESA AEROSOL	Totalmente	Otromaterial	Sí	Poca	No
SC7	EMBLISTADOR	Parcialmente	INOX + otromaterial	Sí	Poca	No

Grado criticidad:




	Bajo
	Medio
	Alto

Tabla 27: Características de los equipos de la planta piloto SDM (2000-2010)

N° CQ	EQUIPO	DESMONTABLE x3	MATERIAL x2	FACILIDAD DE LIMPIEZA x2	FRECUENCIA DE USO x4	PUNTOS MUERTOS x2	RRF
CO13	COMPRIMIDORA ROTATORIA RIVA	0,50	0,25	0,75	1	0,50	8,50
CE1	COMPRIMIDORA BONALS BR-16	0,25	0,25	0,75	0,50	0,50	5,75
CE13	COMPRIMIDORA BONALS	0,25	0,25	0,25	0,75	0,50	5,75
CE2	COMPRIMIDORA BONALS BLANCA	0,25	0,50	0,25	0,75	0	5,25
CO5	COMPRIMIDORA BONALS BMT 388	0,25	0,50	0,25	0,75	0	5,25
CO8	COMPRIMIDORA BONALS PRÁCTIQ	0,25	0,50	0,25	0,75	0	5,25
LF2	AMASADORA LANOR HIMMET	0,75	0,25	0,75	0,50	0,50	7,25
SG1	AMASADORA DOBLE SIGMA	0,75	0,5	0,75	0,25	0,50	6,75
SG7	AMASADORA DOBLE SIGMA RODES	0,25	0,25	0,75	0,25	0,50	4,75
SG8	AMASADORA TURU CON CAMISA CALEFACTADA	0,75	0,25	0,75	0,50	0,50	7,25
SG4	AMASADORA RAVENTOS SARDA	0,25	0,50	0,25	0,50	0	4,25
CR1	BOMBO DE RECUBRIR GLATT	0,50	0,25	0,25	0,75	0	5,5
LI1	LIOFILIZADOR TELSTAR	0,75	0,25	0,75	0,50	0,50	7,25
LF1	LECHO FLUIDO GLATT A6	0,25	0,50	0,75	0,75	0,50	7,25
SG20	SECADORA RÁPIDA TG 100	0,25	0,50	0,25	0,75	0	5,25
SS7	EMULSIONADORA LLEAL BI-AGIS	0,25	0,25	0,75	0,25	0,75	5,25
SS1	MEZCLADOR EMULSIONADOR STEPHAN	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SG5	AMASADORA GRANULADORA LODINGER	0,25	0,25	0,25	0,25	0	2,75
SG6	GRANULADORA HÚMEDOS TURU GRAU	0,50	0,25	0,25	0,75	0	5,5
SG15	GRANULADORA CENTRÍFUGA GLATT	0,25	0,25	0,25	0,50	0	3,75
SG29	GRANULADORA SCT	0,50	0,25	0,75	0,50	0	5,5
ZE1	MICRONIZADOR DINO-MILL	0,25	0,75	0,75	0,25	0	4,75
SG9	MICRONIZADOR	0,25	0,25	0,75	0,50	0	4,75
SG3	MOLINO DE PUAS LLEAL	0,25	0,25	0,75	0,25	0,50	4,75
SG13	TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SG14	TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SG21	TAMIZADORA OSCILLANT BONALS	0,25	0,25	0,25	0,50	0	3,75
CA5	CAPSULADOR J, BERASATEGUI	0,25	0,75	0,25	0,50	0	4,75
CA7	CAPSULADOR MACOFAR	0,25	0,25	0,75	0,25	0,50	4,75
SG10	ESFERONIZADOR	0,50	0,50	0,25	0,75	0	6
SG11	EXTRUSIONADOR	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SG22	ESTUFA DE AIRE FORZADO P SELECTA 297A	0,50	0,25	0,25	0,75	0	5,5
SG25	ESTUFA DE AIRE FORZADO P. SELECTA 371A	0,50	0,75	0,25	0,75	0	6,5
ZE2	DOSIFICADORA INYECTABLES	0,25	0,75	0,75	0,25	0,50	5,75
SS3	ENVASADORA DE SEMISÓLIDOS MINOX	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SA5	MESA AEROSOLÉS	0,25	0,75	0,25	0,50	0	4,75
SC7	EMBLISTADOR	0,50	0,50	0,25	0,50	0	5

Tabla 28: RRF calculado para los equipos del SDM (2000-2010)

Según el análisis (ver figura 28 y tabla 29) los cinco equipos con mayor valoración de riesgo son, la comprimidora RIVA (CO13) con 8,5 puntos de valoración riesgo, la amasadora LANOR HIMMET (LF2), la amasadora TURU (SG8), liofilizador TELSTAR (LI1) y lecho fluido GLATT A6 (LF1), con 7,25 puntos de valoración riesgo y por lo tanto el equipo que se escoge por ser crítico para el estudio de validación de limpieza es la comprimidora RIVA (CO13).

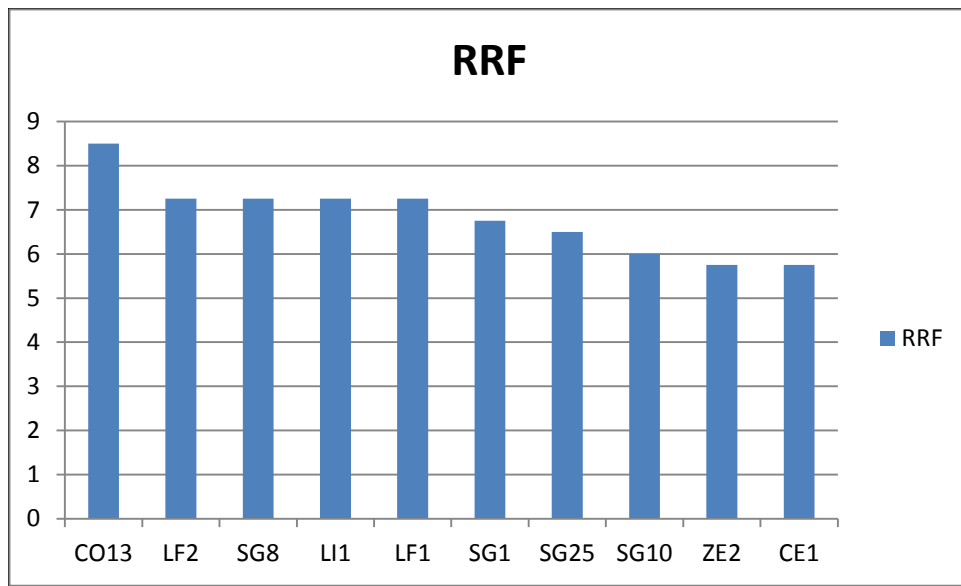


Figura 28: Representación gráfica de los resultados del análisis RRF para los equipos de la planta piloto SDM (los diez equipos con mayor riesgo).

N° CQ	EQUIPO	DESMONTABLE x3	MATERIAL x2	FACILIDAD DE LIMPIEZA x2	FRECUENCIA DE USO x4	PUNTOS MUERTOS x2	RRF
CO13	COMPRESORA RÓTORIA RIVA	0,50	0,25	0,75	1	0,50	8,50
LF2	AMASADORA LANOR HIMMET	0,75	0,25	0,75	0,50	0,50	7,25
SG8	AMASADORA TURU CON CAMISA CALEFACTADA	0,75	0,25	0,75	0,50	0,50	7,25
LI1	LIOFILIZADOR TELSTAR	0,75	0,25	0,75	0,5	0,5	7,25
LF1	LECHO FLUIDO GLATT A6	0,25	0,5	0,75	0,75	0,5	7,25
SG1	AMASSADORA DOBLE SIGMA	0,75	0,5	0,75	0,25	0,5	6,75
SG25	ESTUFA DE AIRE FORZADO P. SELECTA 371A	0,5	0,75	0,25	0,75	0	6,5
SG10	ESFERONIZADOR	0,5	0,5	0,25	0,75	0	6
ZE2	DOSIFICADORA INYECTABLES	0,25	0,75	0,75	0,25	0,5	5,75
CE1	COMPRESORA BONALS BR-16	0,25	0,25	0,75	0,5	0,5	5,75
CE13	COMPRESORA BONALS	0,25	0,25	0,25	0,75	0,5	5,75
CR1	BOMBO DE RECUBRIR GLATT	0,5	0,25	0,25	0,75	0	5,5
SG22	ESTUFA DE AIRE FORZADO P SELECTA 297A	0,5	0,25	0,25	0,75	0	5,5
SG29	GRANULADORA SCT	0,5	0,25	0,75	0,5	0	5,5
CE2	COMPRESORA BONALS BLANCA	0,25	0,5	0,25	0,75	0	5,25
CO5	COMPRESORA BONALS BMT 388	0,25	0,5	0,25	0,75	0	5,25
CO8	COMPRESORA BONALS PRÁCTIQ	0,25	0,5	0,25	0,75	0	5,25
SG20	SECADORA RÁPIDA TG 100	0,25	0,5	0,25	0,75	0	5,25
SS7	EMULSIONADORA LLEAL BI-AG15	0,25	0,25	0,75	0,25	0,75	5,25
SG6	GRANULADORA HÚMEDOS TURU GRAU	0,5	0,25	0,25	0,75	0	5,5
SC7	EMBLISTADORA	0,5	0,5	0,25	0,5	0	5
SG7	AMASADORA DOBLE SIGMA RODES	0,25	0,25	0,75	0,25	0,5	4,75
SS1	MEZCLADOR EMULSIONADOR STEPHAN	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
ZE1	MICRONIZADOR DINO-MILL	0,25	0,75	0,75	0,25	0	4,75
SG9	MICRONIZADOR	0,25	0,25	0,75	0,5	0	4,75
SG3	MOLINO DE PUAS LLEAL	0,25	0,25	0,75	0,25	0,5	4,75
SG13	TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SG14	TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
CA5	CAPSULADOR J, BERASATEGUI	0,25	0,75	0,25	0,5	0	4,75
CA7	CAPSULADOR MACOFAR	0,25	0,25	0,75	0,25	0,5	4,75
SG11	EXTRUSIONADOR	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SS3	ENVASADORA DE SEMISÓLIDOS MINOX	0,25	0,25	0,25	0,75	0	4,75
SA5	MESA AEROSOLES	0,25	0,75	0,25	0,5	0	4,75
SG4	AMASADORA RAVENTOS SARDA	0,25	0,5	0,25	0,5	0	4,25
SG21	TAMIZADORA OSCILLANT BONALS	0,25	0,25	0,25	0,5	0	3,75
SG5	AMASADORA GRANULADORA LODINGER	0,25	0,25	0,25	0,25	0	2,75

Tabla 29: Equipos ordenados según la valoración del riesgo realizado

1.2- Evaluación de los principios activos

En la tabla 30 aparecen los proyectos y sus principios activos para el periodo estudiado (2000-2010), a continuación se hace una clasificación según la toxicidad (ver tabla 31), como está detallado en la metodología y según los intervalos de toxicidad establecidos por Deiscman y Gerarde 1969.

EQUIPO	Nº CQ	Nº PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
AMASADORA LANOR HIMMET	LF2	06/0011	BISULFATO DE CLOPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		05/0007	EBASTINA	COMPRIMIDOS DISPERSABLES
		SERV 08/23	PLACEBO	COMPRIMIDOS
		07/0012	CLORHIDRATO DE PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		07/0014	ESCITALOPRAM	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
BOMBO DE RECUBRIR GLATT	CR1	06/0011	BISULFATO DE CLOPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		06/0017	IRBESARTÁN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		SERV 07/38	METOCLOPRAMIDA DIMETICONA	COMPRIMIDOS MASTICABLES
		08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS EFG
		07/0004	PREDNISONA	COMPRIMIDOS
		SERV 08/64	METOCLOPRAMIDA DIMETICONA	COMPRIMIDOS MASTICABLES
		SERV 08/66	COMPLEJOS VITAMINICOS	COMPLEJOS VITAMINICOS
	07/0003	DESKETOPROFENO	COMPRIMIDOS	
MOLINO DE PUAS LLEAL	SG3	05/0004	PERINDOPRIL TERT-BUTILAMINA	COMPRIMIDOS
ENVASADORA DE SEMISÓLIDOS MINOX	SS3	08/0004	GLICIRRETINATO DE ESTEARIL NICOTINATO DE TOCOFERIL	CREMA
MEZCLADOR EMULSIONADOR STEPHAN	SS1	02/0006	CHLOREXIDINA GLUCONATO	GEL
		08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS EFG
EMULSIONADORA LLEAL BI-AGIS	SS7	08/0007	MUPIROCINA HIDROCORTISONA	GEL BIOADESIVO
		02/0006	CHLOREXIDINA GLUCONATO	GEL
		SERV 08/36	ELABORACIÓN DE UNA CREMA	CREMA
		02/0004	TRICLOSAN	GEL
		07/0005	DOMPERIDONA	SUSPENSIÓN
		SERV 08/55	NISTATINA	GEL
CAPSULADOR MACOFAR	CA7	SERV 08/59	GLUCOSAMINA	ENCAPSULACIÓN NANOCÁPSULAS
		SERV 09/11	DOSIFICACIÓN MICROGRÁNULOS EN CAPSULAS DURAS DE GELATINA	MICROGRÁNULOS

Tabla 30.1: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (1/7)

EQUIPO	N° CQ	N° PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
COMPRIMIDORA ROTATORIA RIVA	CO13	05/0007	EBASTINA	COMPRIMIDOS DISPERSABLES
		05/0005	LOSARTAN POTÁSICO HIDROCLOROTIAZIDA CITALIPRAM SIMVASTATINA	COMPRIMIDOS, GOTAS ORALES
		02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		02/0024	IBUPROFENO	COMPRIMIDOS
		03/0006	LOSARTAN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		04/0008	GLIMEPIRIDA	COMPRIMIDOS
		04/0009	PARACETAMOL	COMPRIMIDOS FLASH
		03/0014	RANITIDINA FAMOTIDINA	COMPRIMIDOS
		SERV 05/06	PLACEBO	COMPRIMIDOS
		SERV 05/35	EBASTINA	COMPRIMIDOS
		06/0017	IRBESARTÁN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		07/0003	DESKETOPROFENO	COMPRIMIDOS
LECHO FLUIDO GLATT A6	LF1	SERV 08/67	GRANULACIÓN Y SECADO DE FIBRAS + AAS EN LECHO FLUIDO	MICROGRÁNULOS
		08/0005	ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	CÁPSULAS
		02/0018	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
		03/0005	ENROFLOXACINO	GRANULOS RECUBIERTOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		03/0007	TAMSULOSINA MICROGRANULOS AP	CÁPSULAS DE GELATINA
		04/0016	AMOXICILINA CLARITROMICINA	MINIGRÁNULAS RECUBIERTOS
		06/0002	LANSOPRAZOL	PELLETS
		04/0004	OMEPRAZOL	PELLETS
		06/0006	MEZCLAS EXCIPIENTADAS	COMPRIMIDOS, CAPSULAS
		SERV 08/33	ASS	RECUBRIMIENTO PELLETS
		SERV 08/45	GRANULACIÓN Y SECADO DE FIBRAS + AAS EN LECHO FLUIDO	MICROGRÁNULOS
GRANULADORA DE HÚMEDOS TURU GRAU	SG6	02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		02/0014	L-METIONINA	CAPSULAS
		02/0029	CICLIMATO SÓDICO	COMPRIMIDOS
		02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
		04/0010	TAMSOLUSINA HIDROCLORURO	CÁPSULAS DURAS
		06/0011	CLOPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		06/0022	CLORAZEPATODIPOTÁSICO PIRIDOXINA CLORHIDRATO	COMPRIMIDOS
		07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS (EFG)
		08/0012	QUETIAPINA FUMARATO	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS ACCIÓN PROLO (EFG)

Tabla 30.2: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (2/7)

EQUIPO	Nº CQ	Nº PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
COMPRIMIDORA BONALS BLANCA	CE2	08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS EFG
		08/0012	QUETIAPINA FUMARATO	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS AP EFG
		06/0009	EBASTINA	SOLUCIÓN ORAL
		02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		02/0024	IBUPROFENO	COMPRIMIDOS
		02/0029	CICLIMATO SÓDICO	COMPRIMIDOS
		02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		07/0004	PREDNISONA	COMPRIMIDOS
		03/0006	LOSARTAN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		03/003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		02/0030	GABAPENTINA	COMPRIMIDOS
		04/0009	PARACETAMOL	COMPRIMIDOS FLASH
		04/0011	ONDANSETRON	COMPRIMIDOS DISPERSIBLES
		05/0002	PALBIO 460 GLUCOSAMINA CLORIDRATO GLUCOSAMINA SULFATO SÓDICA GLUCOSAMINASULFATO POTASICA HYAL-JOINT	COMPRIMIDOS, CÁPSULAS
		05/0005	LOSARTAN POTÁSICO HIDROCLOROTIAZIDA CITALIPRAM SIMVASTATINA	COMPRIMIDOS, GOTAS ORALES
		03/0014	RANITIDINA FAMOTIDINA	COMPRIMIDOS
		05/0004	PERINDOPRIL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		05/0007	EBASTINA	COMPRIMIDOS DISPERSABLES
		SERV 05/35	EBASTINA	COMPRIMIDOS
		SERV 06/05	PLACEBO	COMPRIMIDOS
		05/0008	CANDERSARTÁN	COMPRIMIDOS
		06/0011	CLORPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
06/0017	IRBESARTÁN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS		
SERV 07/21	METOCLOPRAMIDA DIMETICONA	GRANULOS		
07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS		
AMASADORA DOBLE SIGMA	SG1	02/0018	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
		02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
		04/0010	TAMSOLUSINA	CÁPSULAS
		07/0012	PIOGLTAZONA	COMPRIMIDOS
		08/0012	QUETIAPINA FUMARATO	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS ACCIÓN PROLONGADA (EFG)

Tabla 30.3: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (3/7)

EQUIPO	Nº CQ	Nº PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
EXTRUSIONADOR	SG11	02/0018	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
ESFERONIZADOR	SG10	03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	SG13	02/0024	IBUPROFENO	COMPRIMIDOS
		02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		05/0005	LOSARTAN POTÁSICO HIDROCLOROTIAZIDA CITALIPRAM SIMVASTATINA	COMPRIMIDOS, GOTAS ORALES
ESTUFA DE VACÍO HERAEUS	SG24	03/0014	RANITIDINA FAMOTIDINA	SUSPENSIÓN
		06/0002	LANSOPRAZOL	PELLETS
		SERV 04/15	MIRTAZAPINA	COMPRIMIDOS
		SERV 05/37	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
TAMIZADORA OSCILLANT ERWEKA AR 400	SG14	02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		02/0018	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
		02/0029	CICLIMATO SÓDICO	COMPRIMIDOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
		03/0014	RANITIDINA FAMOTIDINA	COMPRIMIDOS
		04/0010	TAMSOLUSINA	CÁPSULAS
		05/0007	EBASTINA	COMPRIMIDOS DISPERSABLES
		SERV 05/35	EBASTINA	COMPRIMIDOS
		SERV 04/02	ENROFLOXACINO LAURIL SULFAT	GRÁNULOS RECUBIERTOS
		06/0011	CLOPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		06/0014	FENOL HIDRATO DE CLORAL	POLVO TÓPICO
		07/0004	PREDNISONA	COMPRIMIDOS EFG
		07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS EFG
08/0012	QUETIAPINA FUMARATO	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS ACCIÓN PROLONGADA (EFG)		
07/0010	KETOPROFENO	PIENSO		
COMPRIMIDORA BONALS PRÁCTIQ	CO8	07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		02/0005	BENZOCAINA	COMPRIMIDOS
		02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		02/0013	MORFINA	COMPRIMIDOS
		02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		02/0033	GLUCOSAMINA	COMPRIMIDOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	COMPRIMIDOS
		05/0007	EBASTINA	COMPRIMIDOS DISPERSABLES

Tabla 30.4: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (4/7)

EQUIPO	N° CQ	N° PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
TAMIZADORA OSCILLANT BONALS	SG21	03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
AMASADORA TURU CON CAMISA CALEFACTADA	SG8	02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		02/0014	L-METIONINA	CÁPSULAS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		06/0018	TERBINAFINA	COMPRIMIDOS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
		02/0029	CICLIMATO SÓDICO	COMPRIMIDOS
		06/0022	CLORAZEPATO DIPOTÁSICO PIRIDOXINA CLORHIDRATO	COMPRIMIDOS
		07/0014	ESCITALOPRAM	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		07/0008	SULFATO DE COLISTINA	PIENSO
GRANULADORA SCT	SG29	02/0018	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS (EFG)
GRANULADORA CENTRÍFUGA GLATT	SG15	03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		06/0014	FENOL HIDRATO DE CLORAL	POLVO TÓPICO
GRANULADORA AMASADORA LODINGER	SG5	07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
AMASADORA RAVENTOS SARDA	SG4	03/0013	FOSFOMICINA TROMETAMOL	CÁPSULAS DURAS
		05/0011	DOXICICLINA HICLATO	CÁPSULAS DURAS
SECADORA RÁPIDA TG 100	SG20	03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÁPSULAS DURAS
		02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		02/0030	GABAPENTINA	COMPRIMIDOS
		03/0007	TAMSULOSINA	CÁPSULAS DURAS
		02/0018	OMEPRAZOL	CÁPSULAS
		04/0010	TAMSOLUSINA HYDROCHLORIDIUM	CÁPSULAS
		SERV 04/2	ENROFLOXACINO LAURILSULFAT	GRÁNOS RECUBIERTOS
		06/0011	CLOPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		06/0014	FENOL HIDRATO CLORAL	POLVO TÓPICO
		07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		08/0006	ATORVASTATINA CÁLCICA	COMPRIMIDOS EFG
		08/0012	QUETIAPINA FUMARATO	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS ACCIÓN PROLONGADA (EFG)
		08/0005	ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	CÁPSULAS
		07/0014	ESCITALOPRAM	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		05/0005	LOSARTAN POTÁSICO HIDROCLOROTIAZIDA CITALIPRAM SIMVASTATINA	COMPRIMIDOS, GOTAS ORALES

Tabla 30.5: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (5/7)

EQUIPO	Nº CQ	Nº PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
LIOFILIZADOR TELSTAR	LII	02/0033	GLUCOSAMINA	COMPRIMIDOS
		SERV 04/11	LIOFILIZACIÓN PLASMA CONEJO	PLASMA
		SERV 04/21	LIOFILIZACIÓN ANTIBIOTICO	-
		SERV 04/22	LIOFILIZACIÓN DISOLUCIÓN PROTECTOR GASTRICO	-
		SERV 05/03	LIOFILIZACIÓN PLASMA CONEJO	-
		04/0007	PANTOPRAZOL	-
		SERV07/34	LIOFILIZACIÓN DE LECHE	-
		SERV 07/36	HORONAL	LIOFILIZACIÓN DISOLUCIÓN
		SERV 08/04	LIOFILIZACIÓN DE LECHE	-
		SERV 08/06	LIOFILIZACIÓN PLASMA CONEJO	-
		SERV 08/09	LIOFILIZACIÓN ARELES PLANTAS	-
		07/0015	ESOMEPRAZOL	INYECTABLE LIOFILIZADO
		SERV 08/19	LIOFILIZACIÓN SERUM CONEJO	-
		07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		08/0009	SULFAMETOXAZOL	INYECTABLE LIOFILIZADO
		SERV 08/52	GLUCOSAMINA HCL CONDROITAN Na2SO4 ÁCIDO HIALURÓNICO DE SODIO GLUCOSAMINA KSO4 PREDNISONA ACECLOFENACO PIOGLITAZONA IBUPROFENO DICLOFENACO PARACETAMOL	-
COMPRIMIDORA BONALS BMT 388	CO5	02/0031	TORASEMIDA	COMPRIMIDOS
		02/0024	IBUPROFENO	COMPRIMIDOS
		03/0006	LOSARTAN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		03/0003	METOPROLOL SUCCINATO PELLETS	CÂPSULAS DURAS
		02/0008	NISTATINA	COMPRIMIDOS
		SERV 03/14	ALANTOINA	PREFORMAS EXCIPIENTES
		SERV 04/08	ÁCIDO SALICÍLICO	COMPRIMIDOS
		04/0008	GLIMEPIRIDA	COMPRIMIDOS
		04/0009	PARACETAMOL	COMPRIMIDOS FLASH
		04/0011	ONDANSETRON	COMPRIMIDOS DISPERSIBLES
		SERV 05/27	MORFINA	COMPRIMIDOS
		04/0005	ACECLOFANACO	COMPRIMIDOS
		SERV 05/35	EBASTINA	COMPRIMIDOS
		SERV 05/41	PLACEBO	COMPRIMIDOS
		05/0004	PERINDOPRIL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		05/0008	CANDESARTÁN	COMPRIMIDOS
		06/0011	CLOPIDOGREL	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		07/0014	ESCITALOPRAM	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		06/0007	KETOPROFENO	SOLUCIÓN ORAL USO VETERINARIO

Tabla 30.6: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (6/7)

EQUIPO	N° CQ	N° PROYECTO	API	FORMA FARMACÉUTICA
COMPRIMIDORA BONALS BR16	CE1	06/0019	DESARROLLO DE COMPRIMIDOS EDULCORANTES	COMPRIMIDOS
		06/0017	IBERSARTÁN	COMPRIMIDOS RECUBIERTOS
		07/0004	PREDNISONA	COMPRIMIDOS EFG
		06/0022	CLORAZEPATODIPOTÁSICO PIRIDOXINA CLORHIDRATO	COMPRIMIDOS
		SERV 07/19	RANITIDINA FAMOTIDINA	COMPRESIÓN GRÁNULOS
		05/0007	EBASTINA	COMPRIMIDOS DISPERSABLES
		07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
		05/0005	LOSARTAN POTÁSICO HIDROCLORTIAZIDA CITALIPRAM SIMVASTATINA	COMPRIMIDOS, GOTAS ORALES
CAPSULADOR J, BERASATEGUI	CA5	SERV 08/59	GLUCOSAMINA	ENCAPSULACIÓN NANOCÁPSULAS
		SERV 09/11	DOSIFICACIÓN MICROGRÁNULOS EN CAPSULAS DURAS DE GELATINA	MICROGRÁNULOS
		05/0002	GLUCOSAMINA CLORIDRATO SULFATO SODICA GLUCOSAMINASULFATO POTASICO ÁCIDO HIALURÓNICO DE SODIO	COMPRIMIDOS, CÁPSULAS
		SERV 05/42	TUNGSTATO SÓDICO	CÁPSULAS
		SERV 05/47	TUNGSTATO SÓDICO	CÁPSULAS
		05/0003	GLUCOSAMINAS	CARACTERIZACIÓN GALÉNICA SeDeM
MESA DE AEROSOLES	SA5	05/0001	CLORTETRACICLINA HCl	AEROSOL
		SERV 08/49	GLUCOSAMINA HCl	SOLUCIÓN ORAL
		SERV09/05	GLUCOSAMINA HCl	SOLUCIÓN AEROSOL
MICRONIZADOR	SG9	07/0012	PIOGLITAZONA	COMPRIMIDOS
MICRONIZADOR DINO-MILL	ZE1	07/0009	CEFALEXINA	SUSPENSIÓN PARENTERAL
DOSIFICADORA INYECTABLES	ZE2	SERV 03/35	MANITOL	INYECTABLES
		SERV 03/33	LEUPROLIDE	LIOFILIZACIÓN MICROCAPSULAS

Tabla 30.7: APIs utilizados en la planta piloto (2000-2010) (7/7)

A continuación, en la tabla 31, se realiza un listado con todos los principios activos trabajados hasta el momento en la planta piloto con el objetivo de poder establecer a través de los datos de toxicidad qué principio activo es el más crítico y por lo tanto representativo del peor caso que será con el que se establecerán los límites de aceptación en cuanto a la limpieza.

API	TOXICIDAD
ACECLOFENACO	Oral LD50 rata = 130 mg/kg
ÁCIDO ACETILSALICÍLICO	Oral LD50rata= 1,3 g/kg
ÁCIDO HIALURÓNICO DE SODIO	Oral LD50 rata > 800 mg/kg
ALANTOINA	Oral LD50rata > 5000 mg/kg
AMOXICILINA	Oral LD50 rata >1500 mg/kg
ATORVASTATINA CÁLCICA	Oral LD 50 rata y ratón >5000 mg/kg
BENZOCAINA	Oral LD50 rata =3040 mg/kg
BISULFATO DE CLOPIDOGREL	Oral LD50 rata= 1914 mg/kg Oral LD50 ratón= 2491 mg/kg
CANDESARTÁN	Oral LD50 ratón y rata >2000 mg/kg
CEFALEXINA	Oral rata DT50 =5000 mg/Kg
CHLOREXIDINA GLUCONATO	Oral LD50 rata= 2g/kg Oral LD50 ratón = 1260 mg/kg
CLORHIDRATO DE ONDANSETRON	Oral LD50 rata 100-150 mg/kg Oral LD50 ratón 10-30 mg/kg
CLORHIDRATO DE RANITIDINA	Oral LD50 rata = 4190 mg/kg
CICLIMATO SÓDICO	Oral LD50 rata= 15,25 g/kg
CIPROFLOXACINO	Oral LD50l rata >5000 mg/kg
CITALIPRAM	Oral LD50 rata= 800 mg/kg Oral LD50 ratón = 1000 g/kg
CLARITROMICINA	Oral LD50 rata/ratón > 5g/kg
CLORAZEPATO DIPOTÁSICO	Oral LD50 rata =1320 mg/kg
CLORHIDRATO DE PIOGLITAZONA	Oral LD50 rata 558 mg/kg Oral LD50 ratón 181 mg/kg
CLORHIDRATO DE PIRIDOXINA	Oral rata LD50 4 g/kg
CLORTETRACICLINA	Oral LD50 ratón = 2314 mg/kg
CONDROITINA SULFATO	Oral LD50 ratón >10000 mg/kg
DICLOFENACO SODIUM/POTASIMUM	Oral LD50 rata= 55 mg/kg
DIMETICONA	Oral LD50 rata >17 g/kg Oral LD50 ratón >20 g/kg
DOMPERIDONA	Oral LD50 rata= 5243 mg/Kg
DOXICICLINA HICLATO	Oral LD50 ratón= 1700 mg/kg
EBASTINA	Oral LD50 rata/ratón >4 g/kg
ENROFLOXACINO	Oral LD50 rata = 10 g/kg Oral LD50 ratón = 8g/kg
ESCITALOPRAM	Oral LD50 rata = 6,8 mg/kg
ESOMEPRAZOL	Oral LD50 rata >2g/kg
FAMOTIDINA	Oral LD50 ratón = 4686 mg/kg
FENILEFRINA CLORHIDRATO	Oral LD50 rata = 350 mg/kg
FENOL	Oral LD50 rata = 317 mg/kg.
FOSFOMICINA/TROMETAMOL	Oral LD50 rata/ratón > 5 g/kg
GABAPENTINA	Oral LD50 rata= >8000 mg/kg
GLIMEPIRIDA	Oral LD50 rata/ratón > 10 g/kg
GLUCOSAMINA	Oral LD50 ratón 15 g/kg
HIDRATO DE CLORAL	Oral LD50 rata = 480 mg/kg
HIDROCHLORODIAZIDA	Oral LD50 ratón >8000 mg/kg
HIDROCORTISONA	Oral LD50 rata/ratón = 5000mg/kg

Tabla 31.1: Listado de los APIs con su toxicidad (1/2)

API	TOXICIDAD
IBUPROFENO	Oral LD50 rata = 636 mg/kg
IRBESARTÀN	Oral LD50 rata/ratón > 2g/kg
KETOPROFENO	Oral LD50 rata = 62,4 mg/kg Oral LD50 ratón = 360 mg/kg
LANSOPRAZOL	Oral LD50 rata > 5000 mg/kg
LAURIL SULFATO	Oral LD50 oral rata=1288 mg/kg
LEUPROLIDE	Oral rata LD50=5g/kg
L-METIONINA	Oral LD50 rata = 36g/kg
LOSARTAN	Oral LD50 rata =1000 mg/kg
MANITOL	Oral rata LD50 =1700 mg/kg
METOCLOPRAMIDA	Oral LD50 ratón =280 mg/kg
METOPROLOL SUCCINATO	Oral rata LD50=5500 mg/kg Oral ratón LD50=2090 mg/kg
MIRTAZAPINA	Oral LD50 oral ratas =320-490 mg/kg
MORFINA	Oral rata LD 50= 461 mg/kg Oral ratón LD50 = 600 mg/kg
MUPIROCINA	Oral LD50 rata/ratón = 5000mg/kg
NISTATINA	Oral LD50 rata = 10g/kg
OMEPRAZOL	Oral LD50 rata = 2210 mg/kg
PANTOPRAZOL	Oral LD50 rata > 1000 mg/kg
PARACETAMOL	Oral LD50ratón =338 mg/kg Oral LD50rata=1944 mg/kg
PERINDOPRIL TERT- BUTILAMINA	Oral LD50 rata >2500 mg/kg
PLASDONE® S-630	Oral LD50> 5000 mg/kg
PREDNISONA	Oral LD50 rata > 10000 mg/kg
QUETIAPINA FUMARATO	LD 50 rata >500 mg/kg
CLORHIDRATO DE RANITIDINA	Oral LD50 rata = 4190 mg/kg
SIMVASTATINA	Oral LD50 rata= 5g/kg
SULFAMETOXAZOL	Oral LD50l rata = 6200 mg/kg Oral LD50 ratón = 2300 mg/kg
SULFATO DE COLISTINA	Oral LD50 rata = 121 mg/kg Oral LD50 ratón = 31,7 mg/kg
TAMSOLUSINA HIDROCLORURO	LD50= 650 mg/kg en ratas
TERBINAFINA	Oral LD50 rata/ratón >4g/kg
TORASEMIDA	Oral LD50 rata = 5G/KG
TRICLOSAN	Oral LD50 rata =3700 mg/kg
TUNGSTATO SÓDICO	Oral LD50 rata =1190 mg/kg
αTOCOFEROL ACETATO	Oral LD50 ratón =5000 mg/kg

Tabla 31.2: Listado de los APIs con su toxicidad (2/2)

API	LD50
ESCITALOPRAM	Oral LD50 rata = 6,8 mg/kg
DICLOFENACO SÓDICO	Oral LD50 rata = 55 mg/kg
KETOPROFENO	Oral LD50 rata = 62,4 mg/kg

Tabla 32: Relación de los tres primeros APIs analizados como más tóxicos, según el análisis de los datos de toxicidad.

Según la tabla 31, y en base a los datos de toxicidad de los APIs procesados en la planta piloto (periodo 2000-2010), se concluye que los tres APIs con mayor toxicidad son escitalopram, diclofenaco sódico y ketoprofeno (ver tabla 32), y por tanto el principio activo peor caso encontrado es escitalopram ya que presenta la LD₅₀ más pequeña.

El proyecto que se estaba llevando a cabo en la planta piloto en ese momento y que tenía continuidad para completar la validación era la quetiapina comprimidos con lo cual, se decidió tomarlo como API trazador, lo que implica el cálculo del factor de recuperación y la validación del método analítico por HPLC para el API quetiapina. Además la quetiapina es poco soluble (www.fermion.fi) con lo cual resulta un peor caso de trazador.

El límite de residuos será el correspondiente al escitalopram ya que según el análisis previo resultó el API más tóxico (ver apartado 7 para su cálculo).

2 - Selección de los puntos de toma de muestra de residuos

Para la toma de muestras, se seleccionaron diferentes puntos críticos del equipo para el estudio del peor caso.

De la comprimidora RIVA (figura 29) se escogen 8 puntos que se detallan en la tabla 33 y en la figura 30. Estos puntos fueron medidos exactamente respecto a su superficie para poder extrapolar el límite de aceptación ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$).

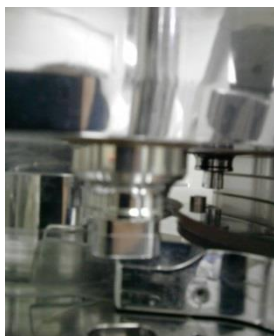
	Punto muestreo	Superficie (cm²)
Pc 1	Punzón de arriba	1,2
Pc 2	Punzón de abajo	20,34
Pc 3	Tolva	25,00
Pc 4	Rampilla de salida	25,00
Pc 5	Entre matrices	25,00
Pc 6	Tapa	25,00
Pc 7	Base	25,00
Pc 8	Cargadora apertura/cierre	5,50

Pc: Punto crítico

Tabla 33: Los puntos críticos utilizados en el muestreo y su superficie calculada.



Figura 29: Foto de la comprimidora RIVA



Pc 1: Punzón de arriba



Pc 2: Punzón de abajo



Pc3 : Tolva



Pc4: Rampilla de salida



Pc 5: Entre matrices



Pc 6: tapa



Pc 7: Base



Pc 8: Cargadora apertura/cierre

Figura 30: Fotos de los puntos críticos utilizados en el muestreo

3-Muestreo

Las superficies estudiadas se muestrearon con dos swabs tal y como se indica en la parte metodológica (apartado muestreo), el primer swab se impregna con 10 mL de fase móvil para HPLC y el segundo seco.

4 - Cálculo de la superficie del equipo que entra en contacto con el producto fabricado

Para el cálculo del límite de aceptación, se necesita saber la superficie del equipo que entra en contacto con el producto fabricado. Se divide el equipo en partes basándose en las diferentes formas geométricas y se mide cada parte. A partir de aquí se suman las superficies hasta tener el total.

En este estudio, se calcula la superficie del equipo más crítico por cada tipo de máquinas (comprimidoras, amasadoras...), (ver tabla 34), se detalla el procedimiento para la amasadora TURU (ver figura 31), de la misma manera se hizo para los otros cuatro equipos críticos.

Equipo	Superficie (cm²)
Comprimidora rotatoria RIVA	4166,7
Amasadora TURU	2824,5
Bombo de recubrir GLATT	3433,9
Lecho fluido GLATT AS	4606,8
Emulsionadora lleal BI-AGI5	4598,16

Tabla 34: Equipos críticos y sus superficies calculadas.

CÁLCULO DE SUPERFICIE

EQUIPO: Amasadora TURU AMG amb camis calefactada
 CÓDIGO: SG8

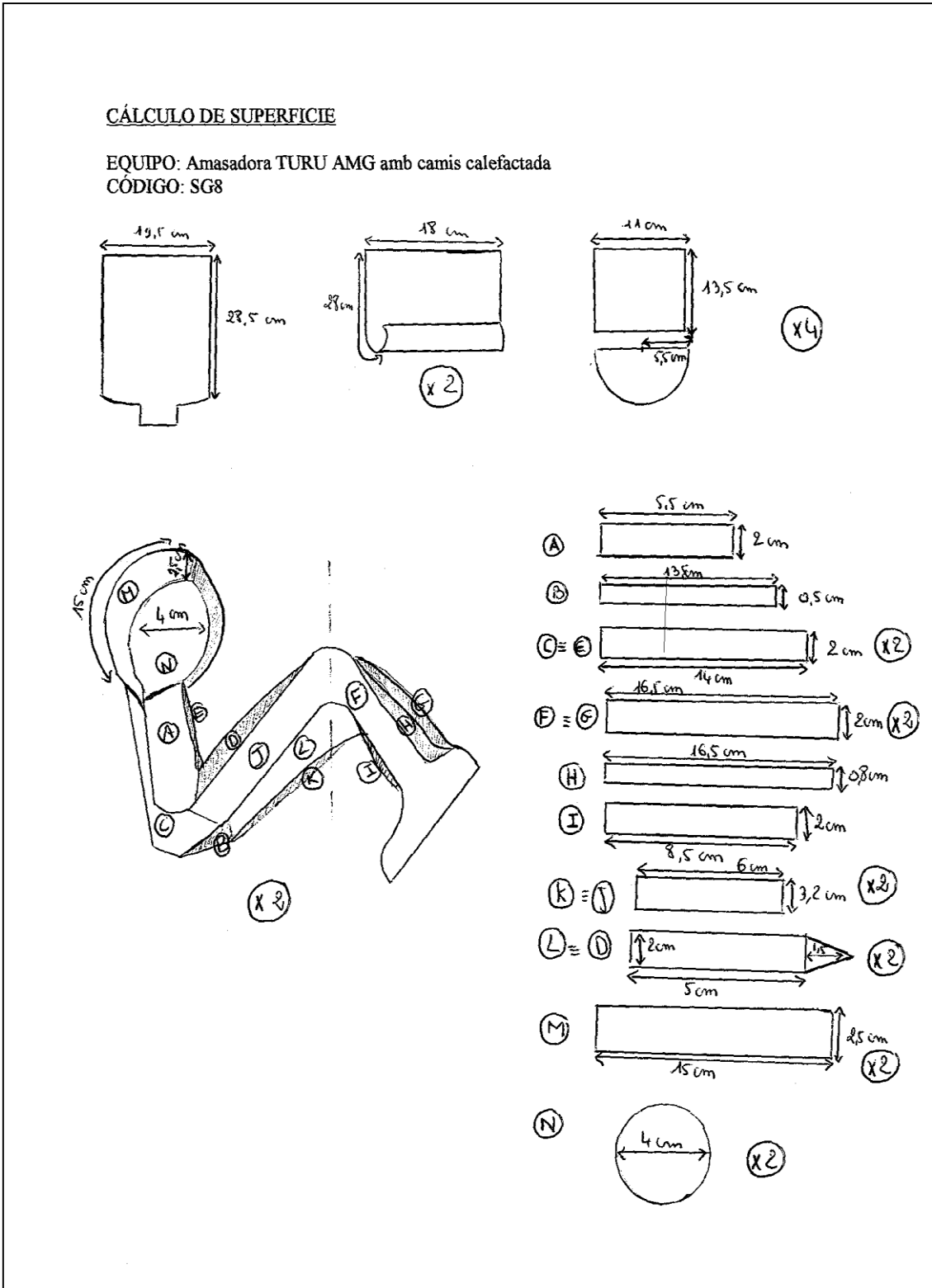


Figura 31: Ejemplo de cálculo de la superficie de la amasadora TURU AMG

5 - Cálculo del límite de aceptación general para la validación de limpieza

Para calcular el límite de aceptación, se escoge el escitalopram por ser el producto más crítico según el análisis de riesgo (su DL50 es de 6,8 mg/Kg y su dosis mínima es de 10 mg/día)

Aplicando las fórmulas comentadas en la metodología se calcula el límite de aceptación en base a los cuatro criterios (ver tabla 35) para el equipo más críticos y se escoge el límite más bajo como especificación.

A continuación, se explica como se hacen los cálculos y las consideraciones respecto a diferentes valores:

- Se ha considerado como posología máxima diaria del principio activo o el peso total de los comprimidos a tomar es 3000 mg.
- Tamaño de lote posterior 0,5 kg, ya que los equipos de la planta son pequeños (excepto alguna excepción concreta) y los tamaños de lote habituales suelen ser de 500 g. Por tanto se toma este peso.

Se calcula para la comprimidora Riva porque según la tabla 29 es el equipo más crítico y uno de los más habituales de uso.

5.1- Límite de aceptación calculado según el criterio de presencia de trazas

La cantidad de contaminante (Qd) permitida para la sustancia posterior en (mg/cm²) se calcula aplicando la siguiente fórmula (Boya, 2009):

$$\mathbf{Qd = 10 \text{ ppm } T / \text{Área del equipo}^1}$$

Sabiendo:

10 ppm: Como se trata de formas sólidas el criterio es 10 ppm, en el caso de las formas estériles el criterio es 1 ppm.

T: Tamaño lote del producto posterior (0,5 Kg)

Área del equipo: 4166,7 cm² para la comprimidora rotatoria RIVA

$$Qd = 10 \text{ mg/Kg} * 0,5 \text{ Kg} / 4166,7 \text{ cm}^2$$

$$Qd = 1,199 \mu\text{g/cm}^2$$

¹Se tiene que mencionar que cuando se realiza por aguas de aclarado se divide por el volumen del equipo.

5.2- Límite de aceptación calculado según el criterio de fracción de dosisterapéutica

La fórmula a aplicar para el cálculo es la siguiente (Boya, 2009):

$$Qd = (d/D1000) * T / \text{Área del equipo}^1$$

Sabiendo que:

d: Dosis mínima diaria de producto contaminante A en mg (10mg/día caso escitalopram)

T: Tamaño del lote del producto posterior (0,5 Kg)

D: Posología máxima diaria del producto posterior (3000 mg)

Área del equipo: 4166,7 cm² para la comprimidora rotatoria RIVA

$$Qd = (10 \text{ mg} / 3000 \text{ mg} * 1000) * 0,5 \cdot 10^9 \mu\text{g} / 4166,7 \text{ cm}^2$$

$Qd = 0,40 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

5.3- Límite de aceptación según TTC

El escitalopram es un producto tóxico pero no cancerígeno, por lo cual y según los rangos establecidos por el umbral de preocupación toxicológica (ver apartado 5.3.3-e de metodología) su límite sería 10 µg por día. Este límite se puede expresar de la siguiente manera:

$$\text{MACO} = 10 \mu\text{g} \times 0,5 \text{ kg} \times 10^6 \text{ mg}/\text{kg}/3000 \text{ mg}$$

$$\text{MACO} = 1666,7 \mu\text{g}$$

$$Qd = 1666,7 \mu\text{g} / 4166,7 \text{ cm}^2$$

$Qd = 0,40 \mu\text{g}/\text{cm}^2$

5.4- Límite de aceptación según el criterio organoléptico

El límite organoléptico normalmente se sitúa aproximadamente entre 4 y 20 (µg/cm²). Este valor se calcula basando en 100 µg/swab y para una placa de 25cm² el valor es 100 µg/25cm² = 4 µg/cm².

5.5- Selección del límite de aceptación

En la tabla 38, se indican los diferentes límites de aceptación calculados para el equipo más crítico en la planta piloto con el fin de elegir el límite más bajo.

Código equipo	Tipo	TTC ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Criterio de la fracción de dosis terapéutica (mg/cm^2)	Presencia de trazas ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Criterio organoléptico ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
CO13	Comprimidora rotatoria RIVA	0,40	0,40	1,199	4,0–20,0

Tabla 35: Resumen de los diferentes límites de aceptación calculados para el equipo más crítico en la planta piloto.

A partir de la tabla 35, se ve que los criterios de la fracción de dosis terapéutica y del umbral de preocupación toxicológica dan el valor más bajo seguido por el criterio de presencia de trazas y el criterio organoléptico, lo que significa que el límite más estricto que representa la concentración teórica máxima permitida en la validación de los procesos de limpieza será el correspondiente al $0,40 \mu\text{g}/\text{cm}^2$.

6 - Validación del método de análisis

Teniendo en cuenta que el principio activo considerado como trazador para llevar a cabo la validación de limpieza es la quetiapina fumarato, tal y como queda reflejado en los anteriores apartados y que el límite de aceptación establecido es de $0,4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, se desarrolla un método adecuado para la cuantificación de dicho principio activo y se valida siguiendo las directrices de las ICH tal y como se comenta en el apartado de metodología. Las condiciones cromatográficas que se encontraron idóneas para el estudio y a partir de las cuales el método analítico ha sido validado, son las que se muestran a continuación:

- Columna: Zorbax SB-Aq, 50 cm x 4,6 mm; 5 μm de tamaño de partícula
- Fase móvil: (Acetonitrilo: solución reguladora*, pH = 7,0) (40:60)
 - * Preparación de la solución reguladora pH $7,0 \pm 0,1$: Se pesan 6,5 g de dihidrógeno fosfato potásico y se disuelven en unos 900 mL de agua calidad HPLC y se ajusta a pH $7,0 \pm 0,1$ con hidróxido de potasio KOH 10 %. Posteriormente se diluye hasta 1000 mL con más agua calidad HPLC. Esta solución reguladora se filtra a través de un filtro de membrana de 0,45 micras de luz de malla, de tipo GHP para eliminar posibles partículas que pudieran a la larga dañar el cromatógrafo.
- Caudal: 1,5 mL/min
- Longitud de onda: 220 nm
- Volumen de inyección: 20 μL
- Temperatura: 35 °C

En cuanto a la concentración de trabajo, ésta se establece en 4µg/mL que deriva del límite de aceptación, el tipo de muestreo, la superficie a muestrear y el volumen más pequeño de disolvente a añadir para tener una disolución adecuada que será inyectada en el sistema cromatográfico.

Teniendo en cuenta que la superficie a muestrear es de 100 cm², se estaría hablando de un total de 40 µg de principio activo máximos que se podría encontrar en esa superficie, los cuales se disuelven en 10 mL de fase móvil (60:40, SR: Acetonitrilo) quedando una concentración de trabajo final de 4µg/mL a partir de la cual se lleva a cabo la validación del método analítico.

De esta forma la solución patrón o concentración de trabajo se prepara de la siguiente forma:

Se pesan 10 mg de quetiapina fumarato, exactamente pesados, utilizando una balanza analítica con una precisión de $\pm 0,01$ mg. Se pesan en un matraz de 25 mL y se disuelven en la mínima cantidad posible de fase móvil (SR: Acetonitrilo, 60:40), mediante sonicación. Una vez atemperado la disolución se enrasa a 25 mL con más fase móvil. De la solución obtenida se toma 1 mL con pipeta aforada y se lleva a 100 mL con fase móvil. Esta solución se filtra a través de filtro de peonza de PVDF con 0,45 µm diámetro poro y se dispone en viales para HPLC.

En cuanto a los criterios de aceptación para cada uno de los parámetros realizados en el estudio de validación, están basados tanto en los criterios considerados por la AOAC (1998) como en los criterios considerados en la monografía de validación de métodos analíticos editada por AEFI (2001).

En cuanto al estudio de linealidad, los criterios de aceptación para el coeficiente de correlación (r) y el coeficiente de determinación (r^2) son respectivamente 0,995 y 0,990. Por otro lado se establece el límite máximo del coeficiente de variación porcentual para el factor respuesta en un 5 %. A parte de estos criterios de evaluación se estudian también el resultado estadístico de la pendiente y el test de proporcionalidad.

En cuanto al estudio de precisión, en lo que hace referencia a la repetibilidad del sistema instrumental, el límite máximo del coeficiente de variación porcentual se establece en un 1 %. Para la precisión del método y precisión intermedia dicho límite se establece en 5,3 %.

Por último, el criterio de evaluación para el estudio de la recuperación del método (exactitud) se establece entre un 90 % y un 107 %.

Los resultados obtenidos para cada uno de los parámetros son los que se detallan a continuación.

6.1- Selectividad

En la figura 32 se adjunta el cromatograma correspondiente a la muestra del blanco del disolvente donde se observa la presencia de un solo pico pequeño, a 0,3 minutos.

En la figura 33 se presenta el cromatograma correspondiente al blanco del swab donde se observa la presencia de pequeños picos no definidos, en el intervalo de tiempo comprendido entre 2 y 3 minutos.

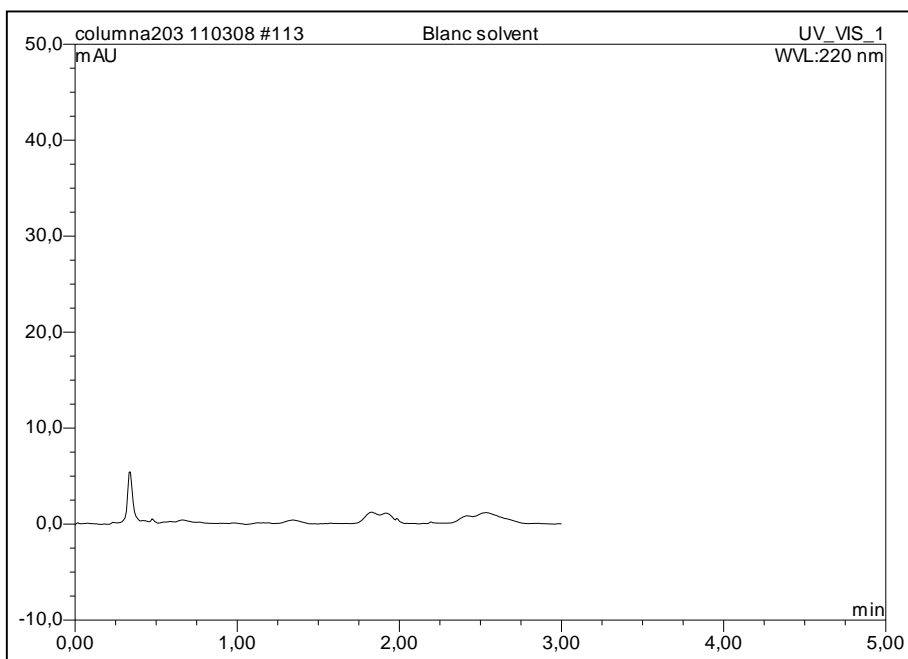


Figura 32: Cromatograma correspondiente al blanco del disolvente

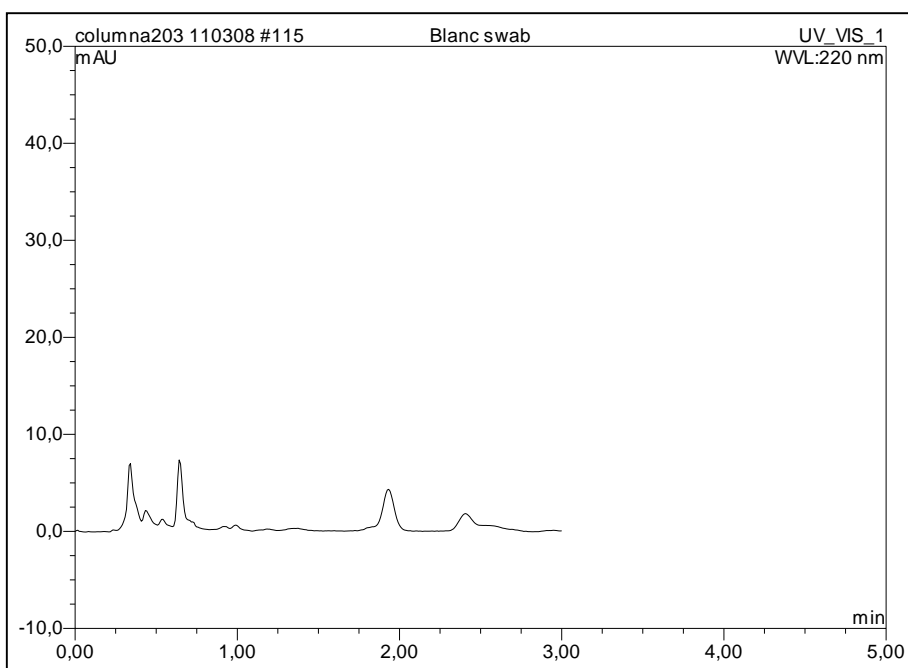


Figura 33: Cromatograma correspondiente al blanco del swab

En la figura 34 se muestra un cromatograma correspondiente al principio activo quetiapina fumarato, donde se puede observar que eluye a un tiempo de retención de 1,850 min donde se puede observar que no interfiere con los picos que aparecen tanto en el blanco del disolvente como el blanco del swab.

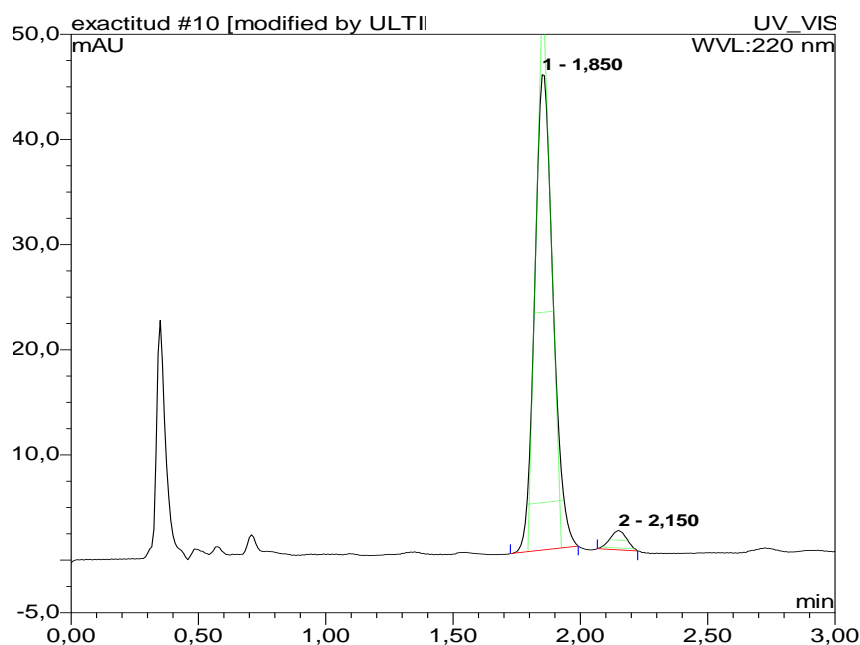


Figura 34: Cromatograma correspondiente a la quetiapina fumarato

Por otro lado los parámetros cromatográficos estudiados corresponden a 2,64 para la eficacia de la columna (K'), 3184 para el número de platos teóricos, 1,22 para la asimetría, valores que se encuentran dentro de las especificaciones establecidas para considerar un método analítico idóneo para su uso (entre 2-10 para la eficacia de la columna, 2000 para el número de platos teóricos y entre 0,8-1,5 para la asimetría)(AEFI, 2001; USP 37 NF 32; Ph. Eur, 2014).

Además, aparece un segundo pico que eluye a 2,150 minutos, pico que corresponde a algún componente del swab utilizado en la validación del proceso de limpieza y que presenta una resolución frente a nuestro pico principal de 2,34 por lo que se demuestra la idoneidad del método desarrollado para el objetivo propuesto y por lo tanto ser válido de forma adecuada.

6.2- Pureza

Se le realiza un estudio de pureza de pico indicando que los tres espectros tomados a diferentes tiempos (figuras 35-36) se encuentran dentro del umbral establecido (950), siendo el valor obtenido de 999, además de obtener un coeficiente de variación porcentual de 0,62% para los tres espectros comparados.

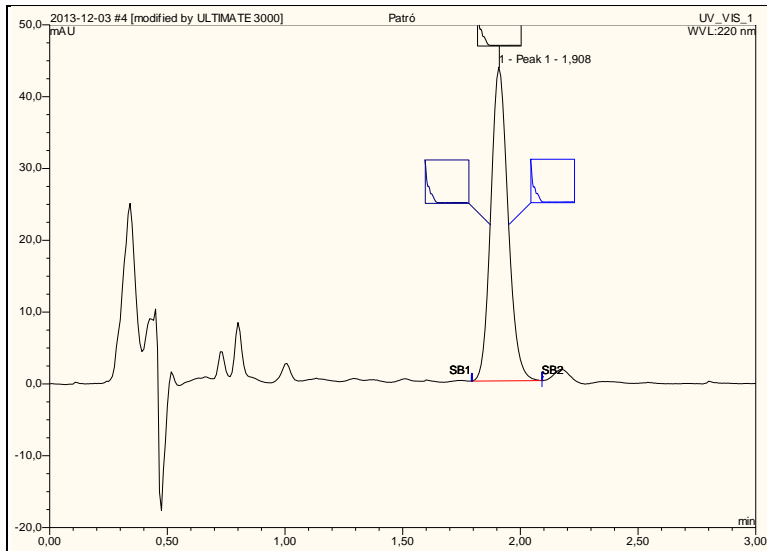


Figura 35: Cromatograma correspondiente al patrón de quetiapina fumarato de Clorvis

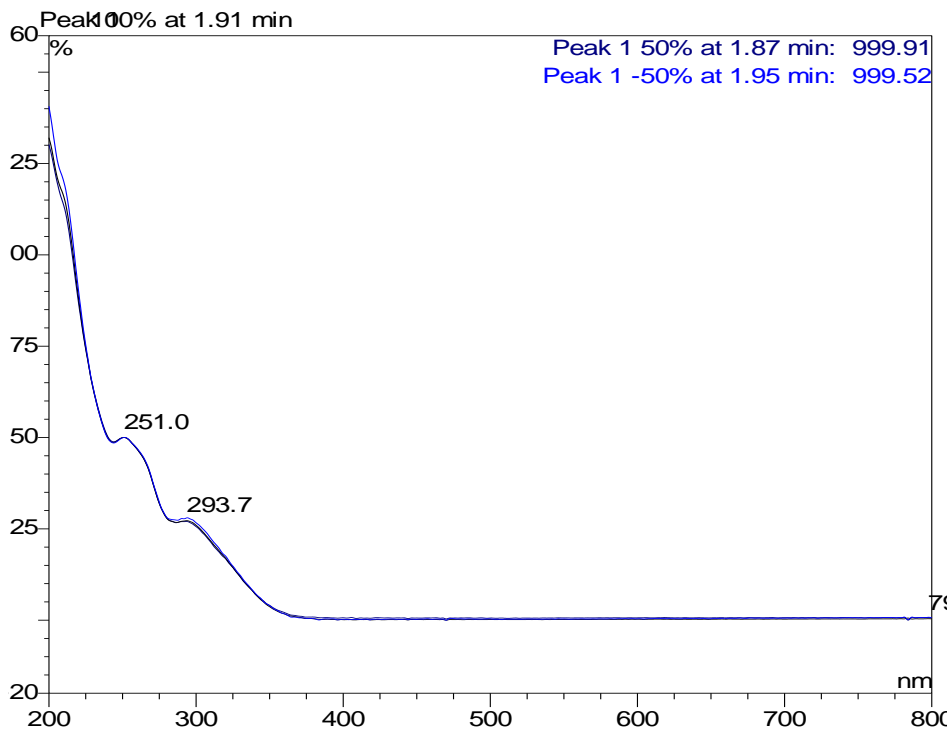


Figura 36-a: Figura correspondiente al estudio de pureza de pico de la materia prima quetiapina fumarato

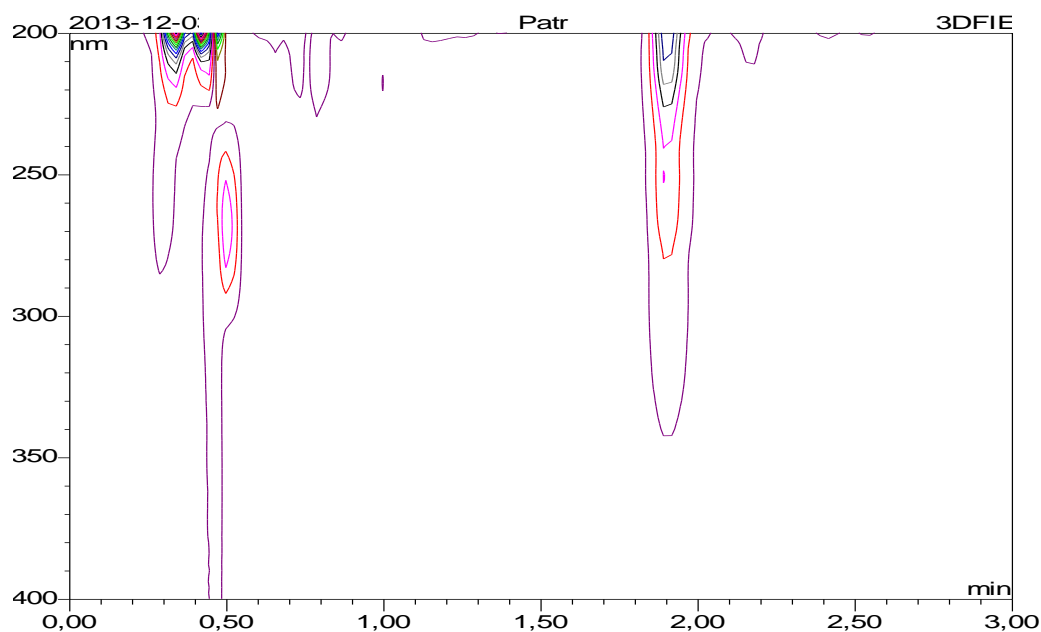


Figura 36-b: Figura correspondiente al estudio de pureza de pico de la materia prima quetiapina fumarato

6.3- Linealidad

Teniendo en cuenta que la concentración de trabajo es 4 µg/mL, el estudio de linealidad se ha llevado a cabo desde el 6,25% hasta el 150% de la concentración de trabajo. En la tabla 36 se detallan las cantidades pesadas de principio activo.

% ANALITO	PESO PRINCIPIO ACTIVO (mg)	CONCENTRACIÓN (µg/ml)
6,25	5,02	0,251
12,5	5,02	0,502
25	5,02	1,04
37,5	15,19	1,519
50	19,75	1,975
62,5	25,40	2,54
75	29,35	2,935
87,5	35,49	3,549
100	40,24	4,024
112,5	45,53	4,553
125	50,75	5,075
137,5	55,00	5,50
150	60,45	6,045

Tabla 36: Tabla correspondiente a las cantidades de principio activo pesadas para la obtención de la linealidad en un intervalo que va de 6,25 % a 150 % de la concentración de trabajo.

Los resultados obtenidos para este estudio se resumen en la tabla 37, correspondiendo la columna de la respuesta, a la media de las tres linealidades obtenidas en las dos inyecciones consecutivas realizadas para cada una de las muestras inyectadas en el cromatógrafo. En esta misma tabla se describe la media, desviación estándar y el coeficiente de variación (expresado en porcentaje) para el factor respuesta, término que representa la relación existente entre la respuesta obtenida y la concentración estudiada y relacionado con la pendiente de la recta obtenida. Por otro lado en esta misma tabla se resumen todos los términos relacionados con el estudio de linealidad correspondiente. Por otro lado también se realiza un estudio estadístico de los resultados obtenidos, resumiéndolos en la tabla 38. En la figura 37 aparece representado la linealidad del método.

%	Conc. µg/ml (X)	Respuesta (Y)	Factor respuesta (Y/X)
6,3	0,269	0,216	0,80
12,5	0,538	0,436	0,81
25	1,077	0,879	0,82
37,5	1,529	1,208	0,79
50	2,034	1,595	0,78
62,5	2,540	2,037	0,80
75	2,994	2,433	0,81
87,5	3,520	2,817	0,80
100	4,011	3,249	0,81
112,5	4,564	3,658	0,80
125	5,068	4,067	0,80
137,5	5,520	4,421	0,80
150	6,045	4,837	0,80
Coef. De correlación R		0,99993	Media: 0,80223 S.D: 0,023 RSD: 2,872
Coef. De determinación R²		0,99985	
Pendiente		0,80205	
Ordenada en origen		0,00015	

Tabla 37: Tabla correspondiente a los resultados obtenidos para el ensayo de linealidad.

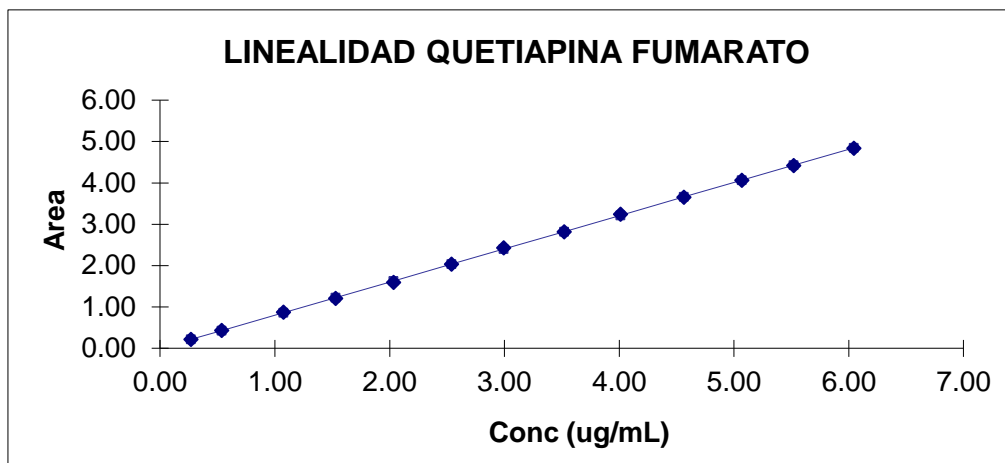


Figura 37: Gráfica correspondiente a la relación lineal entre la concentración ensayada y la respuesta hallada.

Estadísticas de la regresión	
Coefficiente de correlación múltiple	0,99992576
Coefficiente de determinación R ²	0,99985153
R ² ajustado	0,99983803
Error típico	0,01957504
Observaciones	13

ANÁLISIS DE VARIANZA

	Grados de libertad	Suma de cuadrados	Promedio de los cuadrados	F	Valor crítico de F
Regresión	1	28,3844674	28,3844674	74075,62331	2,06778E-22
Residuos	11	0,00421501	0,00038318		
Total	12	28,3886824			

	Coefficientes	Error típico	Estadístico t	Probabilidad	Inferior 95%	Superior 95%	Inferior 95,0%	Superior 95,0%
Intercepción	0,00015187	0,01051214	0,01444732	0,988731811	0,022985195	0,02328894	-0,0229852	0,02328894
Variable X 1	0,80205542	0,00294691	272,168373	2,06778E-22	0,795569312	0,80854152	0,795569312	0,808541525

Tabla 38: Resumen estadístico de la recta de regresión realizado en el estudio de linealidad

A continuación, en las figuras 38 y 39 se adjuntan dos ejemplos de los cromatogramas obtenidos en el estudio de linealidad (correspondientes a la linealidad 1), donde se observa el aumento de área e intensidad de los picos a medida que la concentración del analito en estudio aumenta.

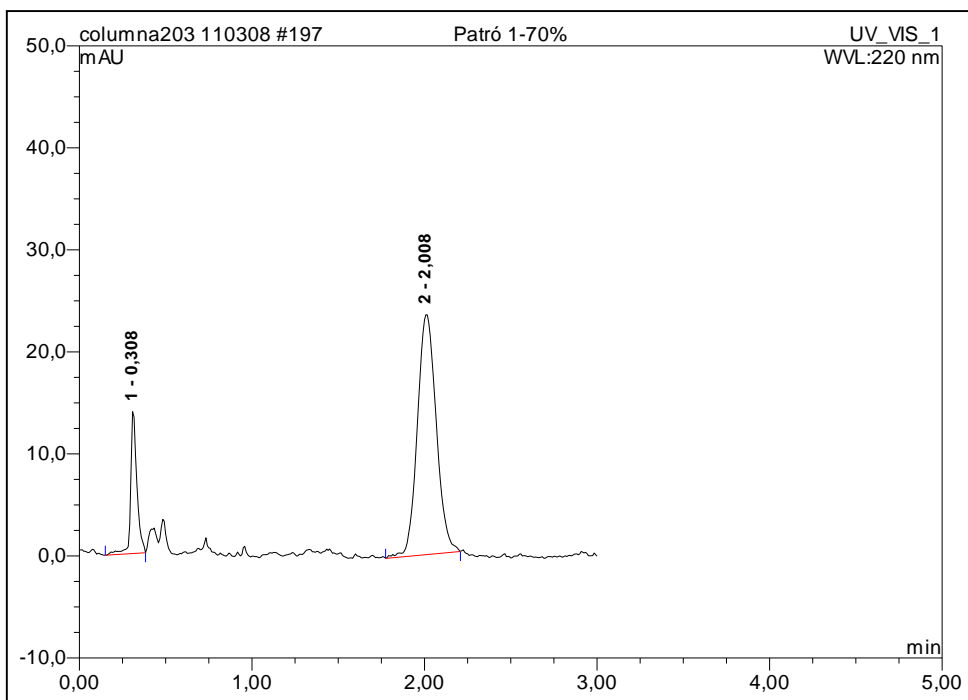


Figura 38: Cromatograma correspondiente a la linealidad 1, concentración de 2,94 µg/ml.

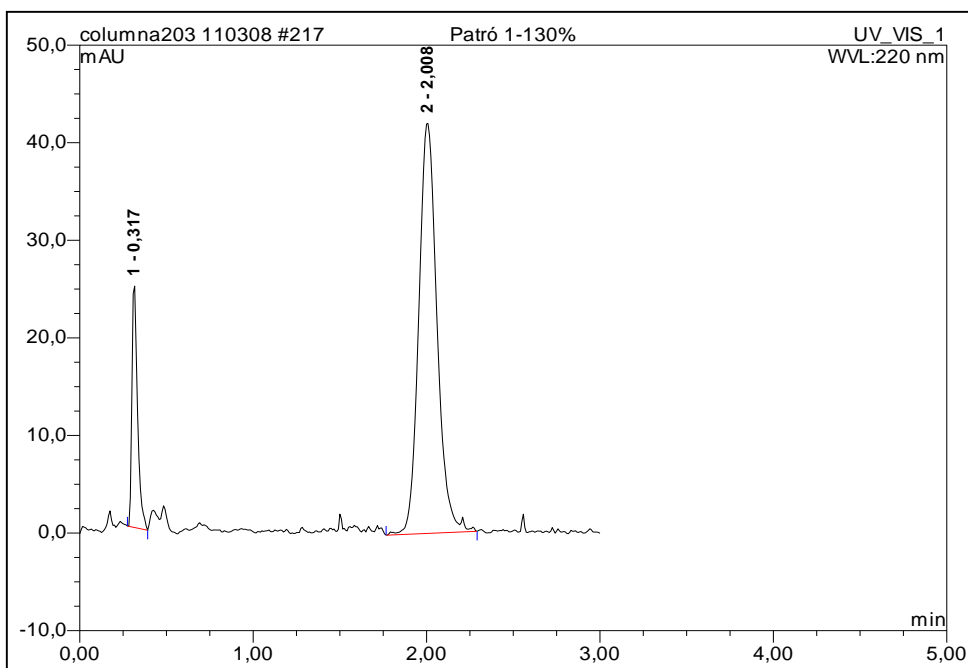


Figura 39: Cromatograma correspondiente a la linealidad 1, concentración de 5,5 µg/ml.

La ecuación de la recta obtenida relacionando la concentración ensayada y respuesta corresponde a $Y = 0,80205X + 0,00015$, siendo el coeficiente de correlación de 0,99993, valor superior al límite, el cual corresponde a 0,995. Por otro lado el coeficiente de determinación obtenido es de 0,99985, siendo este superior al límite (0,990). Este valor indica que existe una correlación del 99,9% entre la concentración ensayada y la respuesta obtenida, por lo que la relación lineal obtenida es buena, tal y como se refleja en la figura 37.

Por otro lado, en el estudio del factor respuesta, que tal y como se ha comentado anteriormente, es el término que representa la relación existente entre la respuesta obtenida y la concentración estudiada, se obtiene una media de 0,802, siendo la desviación estándar de 0,023 y su coeficiente de variación porcentual de 2,89 %. El valor obtenido de la media es igual al valor obtenido de la pendiente (0,802), reflejando así la buena correlación lineal existente entre concentración y respuesta en el intervalo estudiado. Por otro lado el coeficiente de variación obtenido es inferior al 5% establecido como criterio de aceptación, demostrando así la buena correlación existente. Del estudio estadístico realizado, se desprende que el valor de F obtenido para el 95 % de probabilidad y 2 grados de libertad es de 74075,62, valor muy por encima del establecido en las tablas correspondientes al estudio de linealidad y que corresponde a $2,067 \times 10^{-22}$. Por otro lado se demuestra que la ordenada en el origen n no es distinta de 0, siendo su intervalo de confianza al 95 % (-0,023 y 0,023) donde el 0 está incluido. En cuanto a la pendiente, el intervalo obtenido para el 95 % comprende desde 0,796 hasta 0,808, no incluyendo el 0. Por lo tanto cumple con uno de los test a realizar para observar el comportamiento lineal del estudio realizado. Con todo ello, puede concluirse que la metodología analítica propuesta es lineal.

6.4- Precisión

6.4.1- Repetibilidad del sistema instrumental

En la tabla 39 se resumen los resultados obtenidos para la respuesta y el tiempo de retención tanto para el estudio realizado un día como para el estudio realizado otro día. Se presenta además, la media, desviación estándar y el coeficiente de variación porcentual (CV%) de forma individual para cada día estudiado y de forma conjunta para los dos días estudiados, estos últimos resultados presentes en la tabla 40.

Resultados estadísticos	Factor respuesta	Tiempo retención (min)
Media	3,189	1,734
SD	0,058	0,025
RSD	1,813	1,421

Tabla 39: Tabla correspondiente a los resultados estadísticos realizados de forma conjunta para los dos días en estudio

Inyección	Día 1		Día 2	
	Tiempo de retención (min)	Factor respuesta	Tiempo de retención (min)	Factor respuesta
1	1,758	3,1387	1,708	3,2563
2	1,758	3,1353	1,708	3,2365
3	1,758	3,1415	1,708	3,2419
4	1,758	3,1326	1,717	3,2825
5	1,758	3,1346	1,708	3,2509
6	1,758	3,1303	1,708	3,244
7	1,758	3,141	1,708	3,2076
8	1,758	3,1348	1,708	3,2416
9	1,758	3,1299	1,708	3,2458
10	1,758	3,132	1,725	3,2417
Media	1,758	3,135	1,711	3,245
SD	0	0,004	0,01	0,018
RSD	0	0,132	0,34	0,569

Tabla 40: Tabla correspondiente a los resultados obtenidos para el estudio de repetibilidad del sistema instrumental.

Por otro lado, en las figuras 40 y 41 se adjunta un ejemplo de las inyecciones realizadas en este estudio para uno y otro día respectivamente.

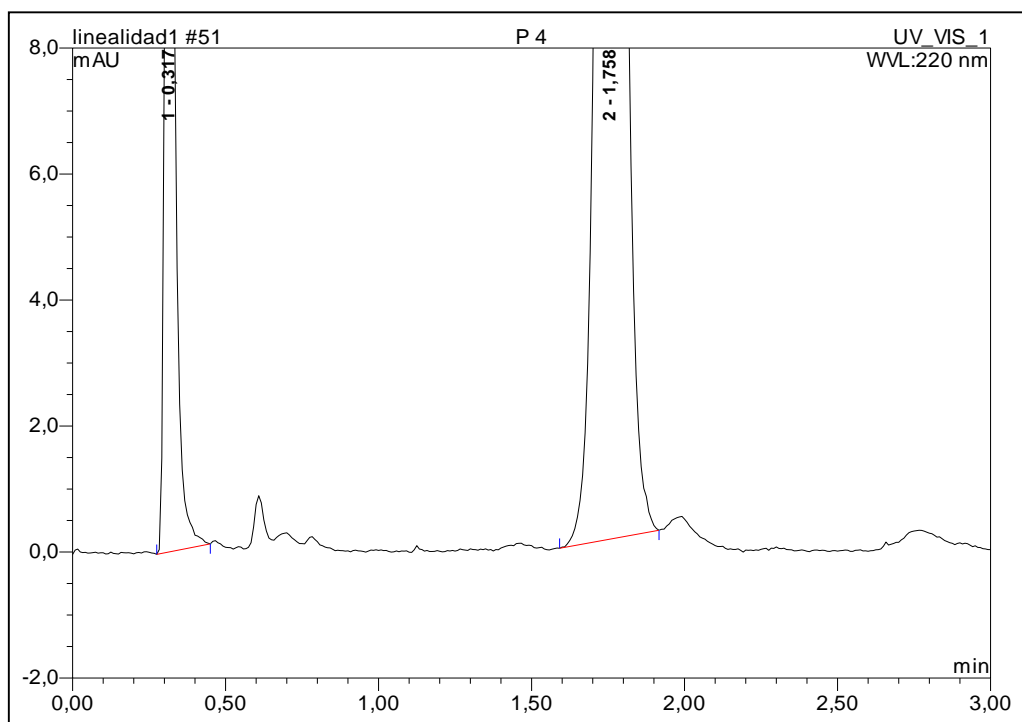


Figura 40: Cromatograma correspondiente al estudio de repetibilidad del sistema instrumental, día 1.

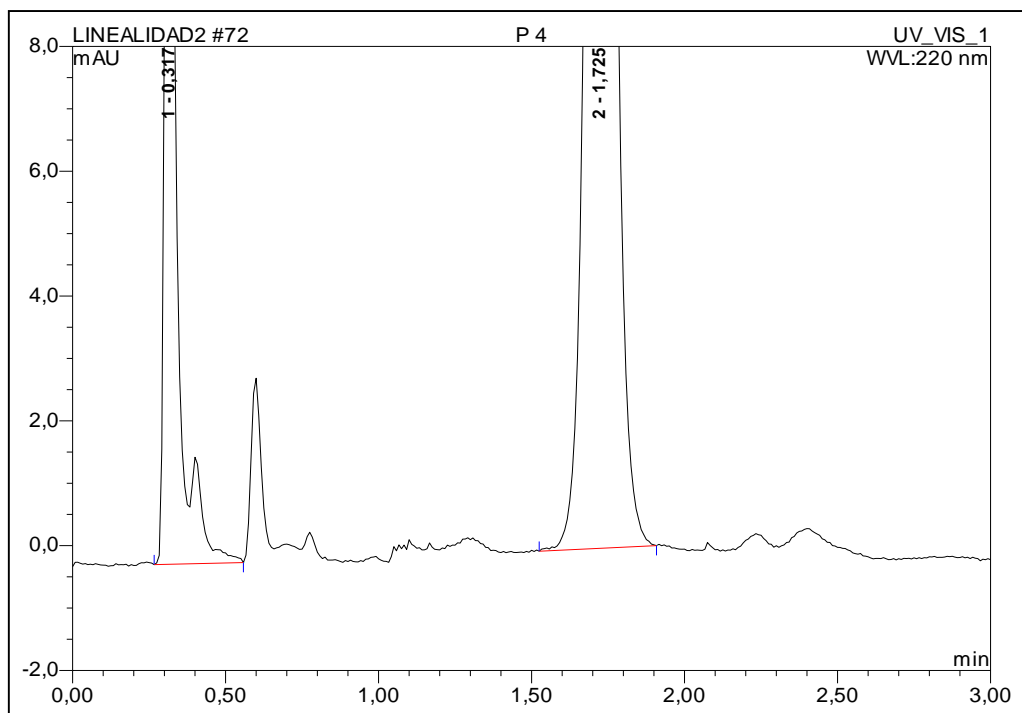


Figura 41: Cromatograma correspondiente al estudio de repetibilidad del sistema instrumental, día 2.

En cuanto a los resultados obtenidos, se observa que tras el análisis de 10 inyecciones consecutivas para el primer día, el valor medio obtenido para el factor respuesta es de 3,135, la desviación estándar corresponde a 0,004 y el coeficiente de variación porcentual de 0,132 %. En cuanto al tiempo de retención estudiado, el valor medio corresponde a 1,758 minutos, la desviación estándar de cero y el coeficiente de variación a cero%.

En cuanto a los resultados obtenidos en el segundo día de estudio, el valor medio obtenido para la respuesta es de 3,245, la desviación estándar corresponde a 0,018 y el coeficiente de variación porcentual a 0,569 %. En cuanto a los resultados estadísticos obtenidos para el tiempo de retención, la media corresponde a 1,711 minutos, la desviación estándar es de 0,01 y el coeficiente de correlación es de 0,34 %.

En cuanto al estudio estadístico realizado conjuntamente para ambos días de estudio, se observa que la media obtenida para la respuesta corresponde a 3,189, la desviación estándar a 0,058 y el coeficiente de variación porcentual a 1,813 %.

En todos los casos el coeficiente de variación obtenido está muy por debajo del 2 %, porcentaje límite establecido para el estudio de repetibilidad del sistema instrumental, demostrando así que el equipo utilizado para el estudio funciona correctamente para el método analítico desarrollado, que es altamente repetitivo.

6.4.2- Repetibilidad del método

En la tabla 41 se resumen los resultados obtenidos para el ensayo de repetibilidad de la solución patrón, junto con la media, desviación estándar y el coeficiente de variación porcentual para el parámetro estudiado de factor respuesta. En la columna correspondiente a la respuesta, el valor resultante proviene de la media de dos inyecciones realizadas para cada una de las muestras ensayadas.

Muestra	%	Conc. µg/ml (X)	Respuesta (Y)	Factor respuesta (Y/X)
1	6,3	0,276	0,216	0,785
2	6,3	0,281	0,235	0,835
3	6,3	0,251	0,196	0,782
4	100	4,011	3,349	0,835
5	100	3,998	3,249	0,813
6	100	4,024	3,148	0,782
7	150	6,049	4,984	0,824
8	150	6,041	4,863	0,805
9	150	6,045	4,665	0,772
N				9
Media				0,804
SD				0,024
RSD				3,042

Tabla 41: Tabla correspondiente a los resultados obtenidos en el estudio de repetibilidad de la solución patrón.

Para el estudio de precisión de la repetibilidad de la solución patrón, se determina el factor respuesta para normalizar las concentraciones y respuestas de cada una de las soluciones preparadas. La media obtenida para el factor respuesta es de 0,804, mientras que la desviación estándar y el coeficiente de variación son 0,024 y 3,042 % respectivamente. Este último valor correspondiente al coeficiente de variación se encuentra muy por debajo del establecido como especificación (5,3 %), por lo que con el método desarrollado, se obtiene una buena repetibilidad y precisión para la solución patrón.

6.4.3- Precisión intermedia

En las tablas se muestran los resultados obtenidos para el estudio de precisión intermedia. Dado que las concentraciones de las diferentes muestras analizadas no son las mismas se utiliza el factor respuesta para poder comparar los resultados analizados. Por una parte en la tabla 42 se resumen los resultados obtenidos por un analista en dos días diferentes, estudiando tanto la media, desviación estándar y coeficiente de variación porcentual para cada uno de los días, como para el conjunto de los dos días ensayados. Por otro lado en la tabla 43 se resumen los resultados obtenidos para dos analistas diferentes, estudiando tanto la media, desviación y coeficiente de variación porcentual tanto para cada uno de los analistas por separado, como para el conjunto de los valores obtenidos.

<u>Días diferentes, un mismo analista</u>						
%	DÍA 1			DÍA 2		
	Conc (X) (µg/ml)	Área (Y)	FR (Y/X)	Conc (X) (µg/ml)	Área (Y)	FR (Y/X)
100	4,17	3,40085	0,815	4,35	3,80970	0,875
100	4,14	3,40475	0,823	4,34	3,74520	0,862
100	4,07	3,59955	0,885	4,12	3,60590	0,874
100	4,21	3,49160	0,829	4,32	3,87375	0,898
100	4,08	3,42965	0,840	4,03	3,46035	0,859
100	4,10	3,35570	0,818	4,12	Valor aberrante	
100	4,04	3,34610	0,827	4,24	3,72420	0,878
Media			0,834			0,874
SD			0,024			0,014
RSD			2,854			1,560

Media interdía	0,853
SD interdía	0,028
RSD interdía	3,316

Tabla 42: Tabla resumen de los resultados obtenidos para el estudio de precisión intermedia, un mismo analista, días diferentes.

<u>Analistas diferentes</u>						
%	ANALISTA 1			ANALISTA 2		
	Conc (X) (µg/ml)	Área (Y)	FR (Y/X)	Conc (X) (µg/ml)	Área (Y)	FR (Y/X)
100	4,17	3,40085	0,815	3,99	3,20300	0,803
100	4,14	3,40475	0,823	4,05	3,33485	0,824
100	4,07	3,59955	0,885	4,00	3,21235	0,804
100	4,21	3,49160	0,829	4,08	3,27950	0,803
100	4,08	3,42965	0,840	4,17	3,36155	0,807
100	4,10	3,35570	0,818	4,24	3,40210	0,802
100	4,04	3,34610	0,827	4,13	3,39040	0,821
Media			0,834			0,809
SD			0,024			0,009
RSD			2,854			1,148

Media interanalista	0,822
SD interanalista	0,022
RSD interanalista	2,631

Tabla 43: Tabla resumen de los resultados obtenidos en el estudio de precisión intermedia, diferentes analistas.

En las figuras 42, 43 y 44 se presenta un ejemplo de cromatograma obtenido para cada uno de los estudios realizados (analista 1-día 1, analista 2-día 2 y analista 2), donde se observa que no existe variación alguna en cuanto a los picos de la quetiapina fumarato.

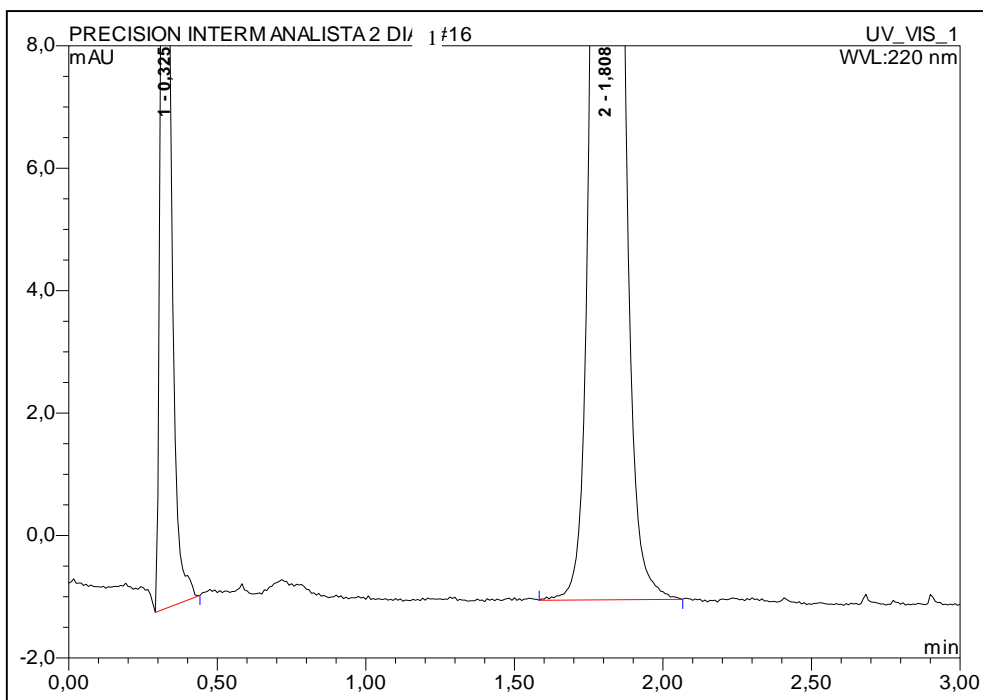


Figura 42: Cromatograma correspondiente al estudio de la repetibilidad intermedia, analista 1, día 1.

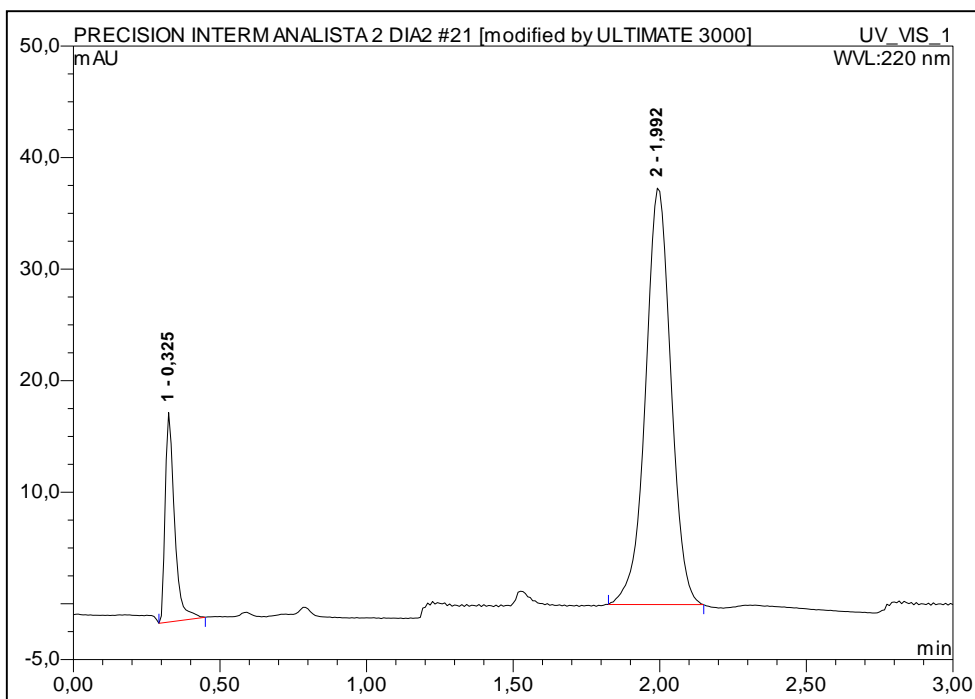


Figura 43: Cromatograma correspondiente al estudio de la repetibilidad intermedia, analista 2, día 2.

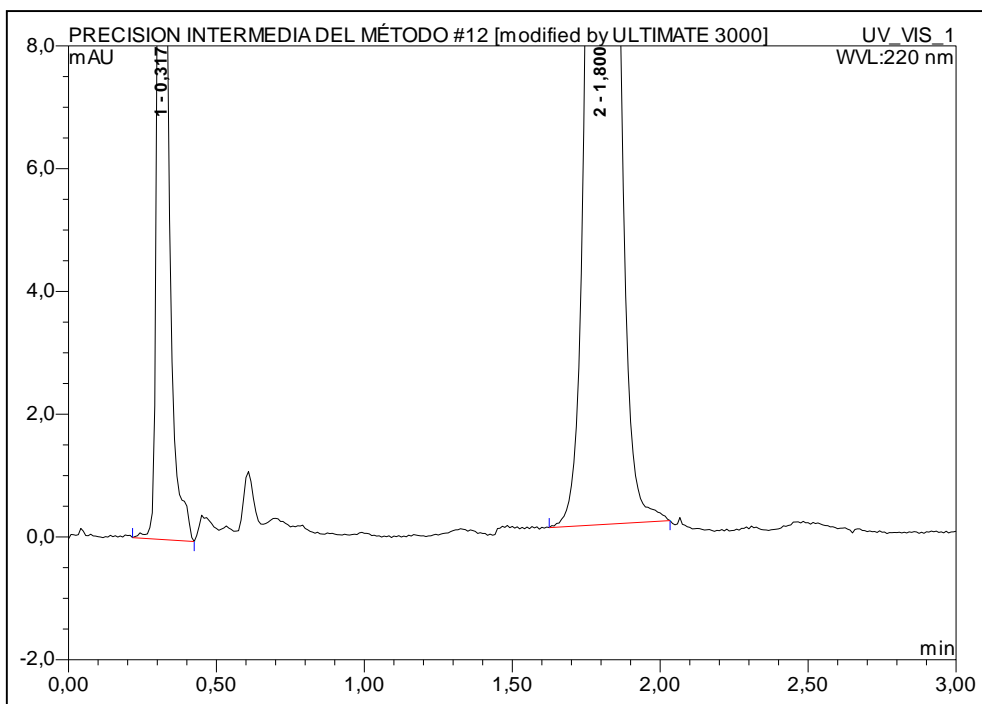


Figura 44: Cromatograma correspondiente al estudio de la repetibilidad intermedia, analista 2.

En la comparación del estudio realizado por un mismo analista en diferentes días se observa que la media global obtenida corresponde a 0,853, mientras que la desviación estándar y el coeficiente de variación son de 0,028 y 3,316 % respectivamente. Individualmente para cada día, los valores obtenidos de media corresponden a 0,834 para el primer día y a 0,874 para el segundo día, mientras que la desviación estándar y el coeficiente de variación para el primer día son 0,024 y 2,854% respectivamente y para el segundo día 0,014 y 1,560 %. Por tanto, los valores obtenidos en el coeficiente de variación, tanto individual como globalmente, cumplen con la especificación establecida ($\leq 5,3\%$).

En cuanto a los resultados obtenidos en la comparación de las muestras preparadas por dos analistas, la media global corresponde a 0,822, la desviación estándar corresponde a 0,022 y el coeficiente de variación porcentual es de 2,631 %. Individualmente para el analista 1 la media obtenida es de 0,834, la desviación estándar es de 0,024 y el coeficiente de variación de 2,854 %. Para el analista 2 estos valores corresponden respectivamente a 0,874, 0,014 y 1,560 %. Por tanto los valores obtenidos en el coeficiente de variación, tanto individual como globalmente, cumplen con la especificación establecida correspondiente a un 5,3%, demostrándose así que la técnica analítica propuesta posee una buena precisión intermedia.

6.5- Exactitud

En la tabla 44, se mencionan los pesos en principio activo utilizados en el estudio de exactitud.

En la tabla 45 se resumen los resultados obtenidos para el estudio de exactitud, adjuntando la media, desviación estándar y coeficiente de variación porcentual (CV%) para la recuperación calculada, al igual que otros parámetros estadísticos como la t de Student experimental para comprobar que los resultados obtenidos son lo suficientemente fiables y exactos para dar como bueno el estudio de exactitud.

%	Peso principio activo (mg)	Concentración teórica (µg/ml)	Nº de replicados
6,3	5,11 mg 5,34 mg 5,49 mg	0,25	3
100	10,88 mg 10,86 mg 10,31 mg	4,0	3
150	15,68 mg 15,37 mg 15,39 mg	6,0	3

Tabla 44: Tabla correspondiente a los pesos tomados de principio activo para el ensayo de exactitud.

Por otro lado en las figuras 45, 46, 47, 48, 49 y 50 se presenta un ejemplo de los cromatogramas obtenidos en este estudio que corresponden respectivamente al 6,3 %, 100 % y 150 % de la concentración de trabajo.

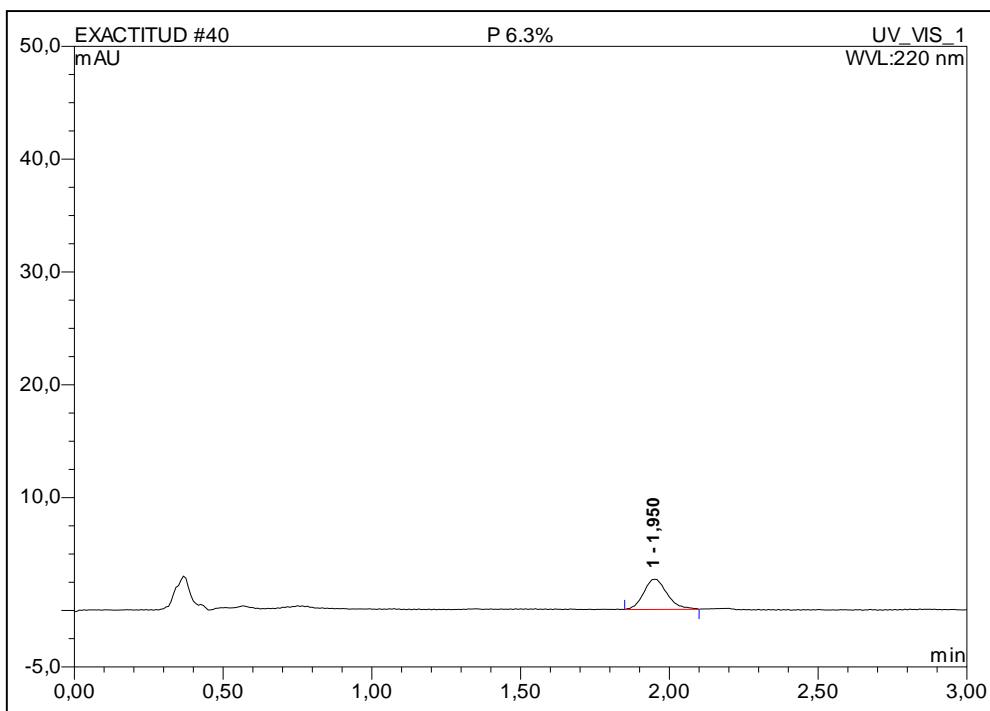


Figura 45: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (patrón al 6,3 %).

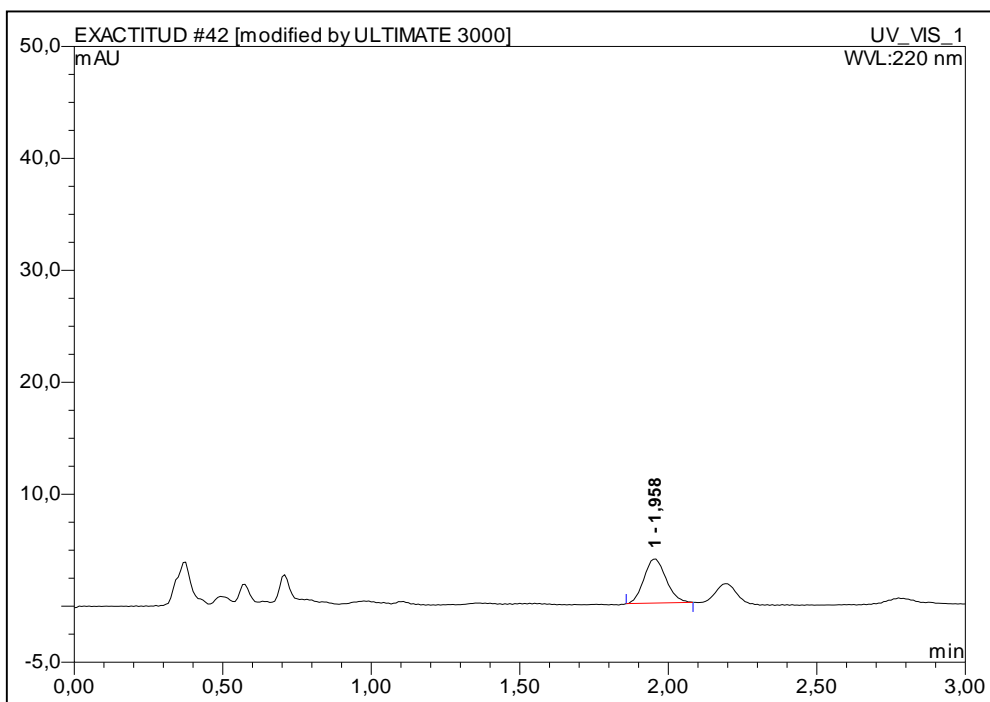


Figura 46: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (problema al 6,3 %).

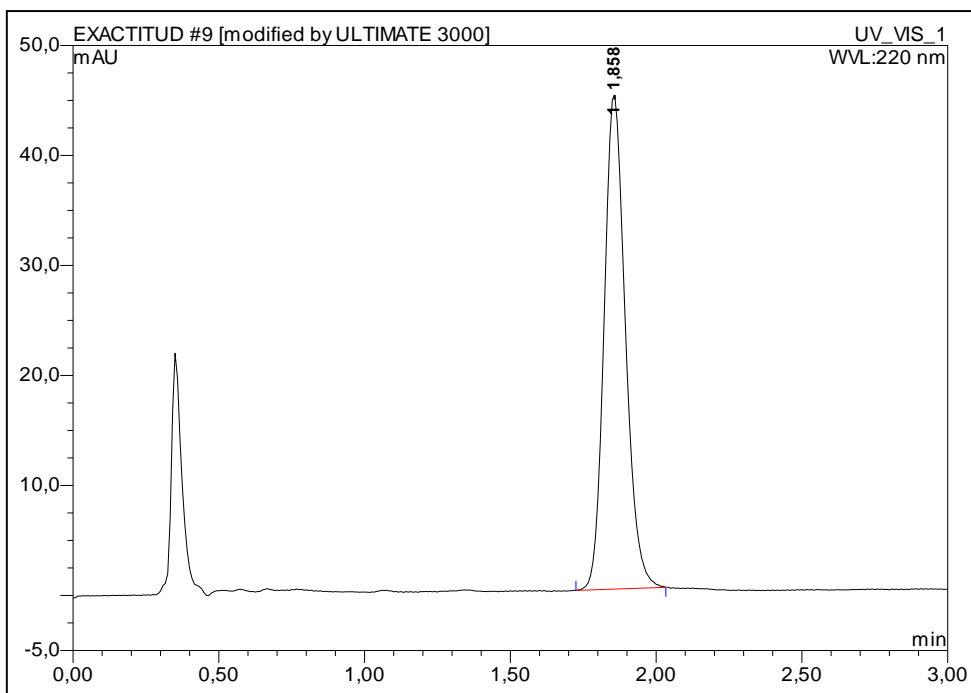


Figura 47: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (patrón al 100 %).

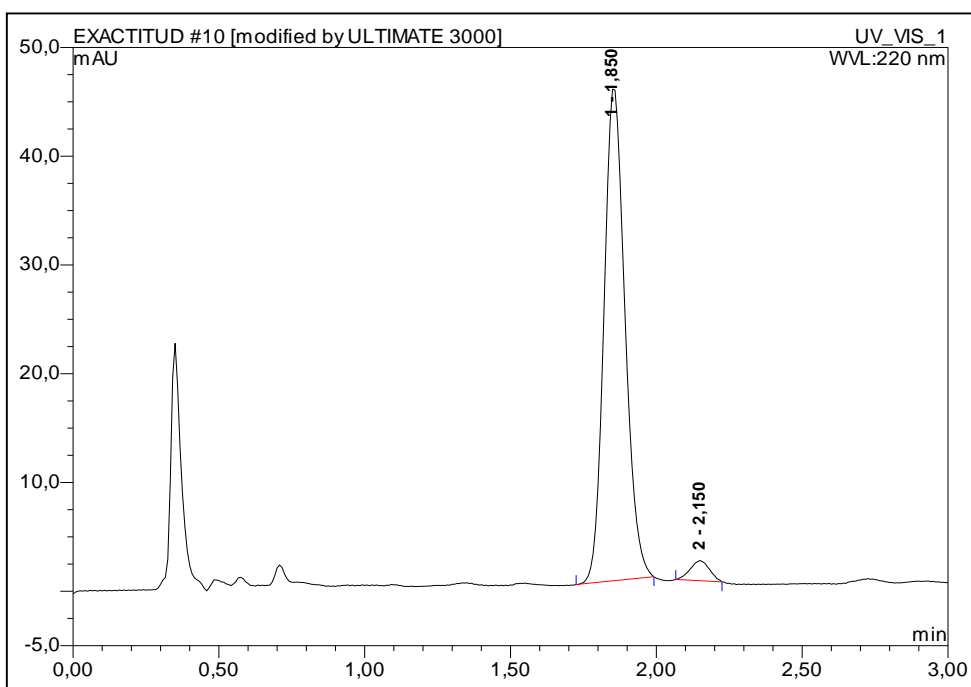


Figura 48: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (problema al 100 %).

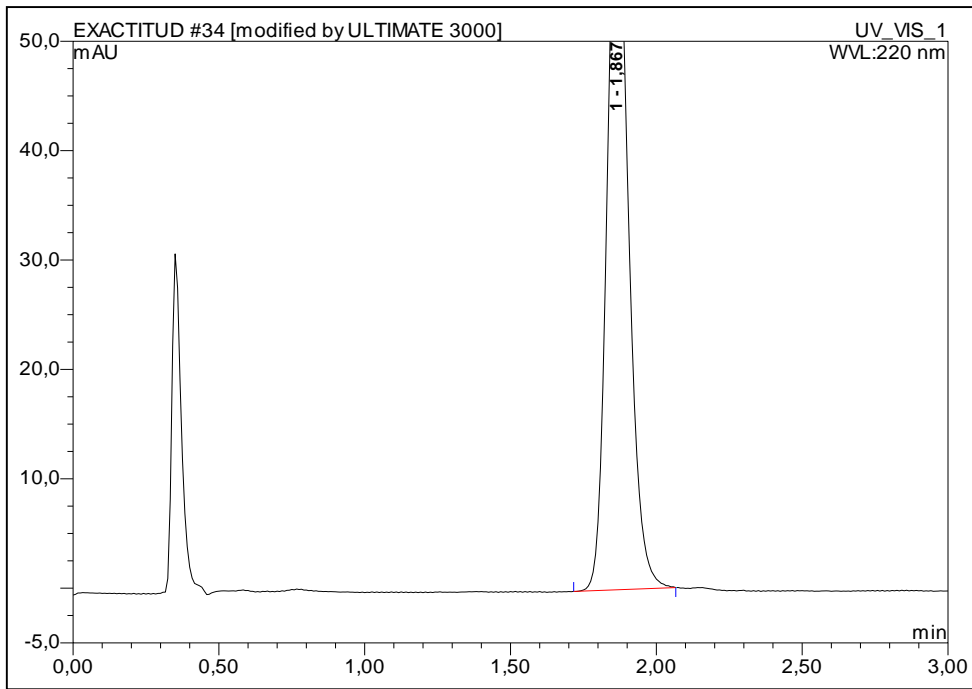


Figura 49: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (patrón al 150 %).

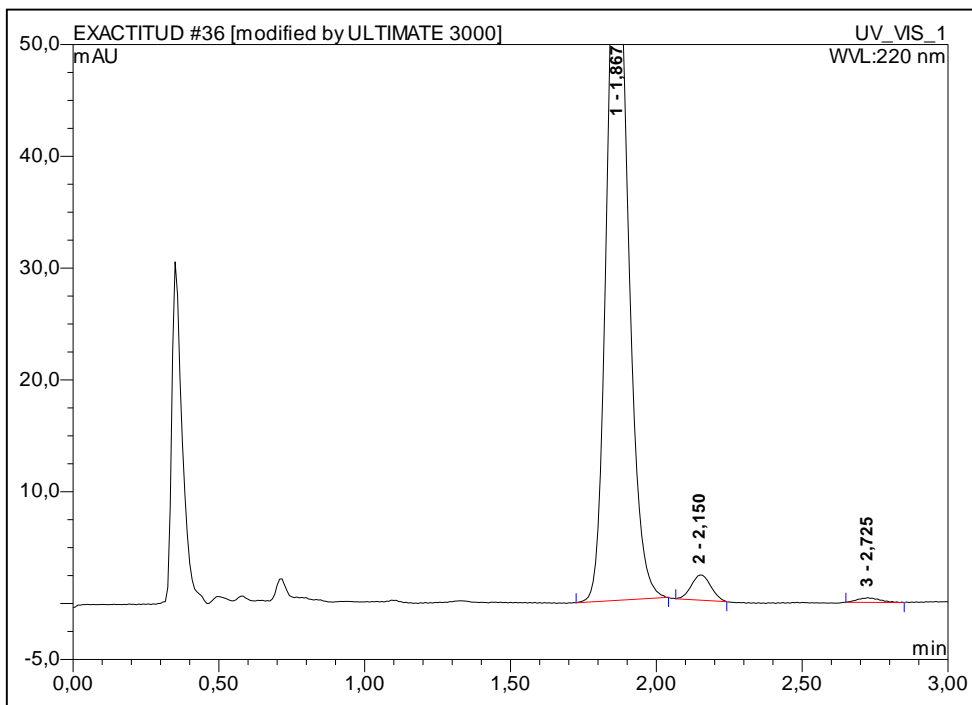


Figura 50: Cromatograma correspondiente al estudio de exactitud (problema al 150 %).

Muestra n°	% de la concentración de trabajo	Concentración (µg/ml) añadido	Concentración (µg/ml) hallado	Error relativo en %	% recuperado
1	6,3	0,256	0,249	2,3681	97,63
2	6,3	0,256	0,249	2,5758	97,42
3	6,3	0,256	0,245	3,9468	96,05
4	100	4,352	4,354	-0,0447	100,04
5	100	4,352	4,259	2,1290	97,87
6	100	4,352	4,133	5,0291	94,97
7	150	6,272	6,380	-1,7276	101,73
8	150	6,272	6,061	3,3591	96,64
9	150	6,272	6,093	2,8497	97,15
N				9	
Recuperación (media)				97,7239	
SD				2,0435	
RSD				2,0911	

Tabla 45: Resumen de los resultados obtenidos en el estudio de exactitud.

En cuanto al estudio de recuperación del principio activo, se obtiene un valor medio de recuperación de 97,72 %, siendo la desviación estándar de 2,04 y el coeficiente de variación porcentual de 2,09 %.

Los valores obtenidos de recuperación para todos los niveles de concentración estudiados (6,3 %, 100 % y 150 %) se encuentran comprendidos entre 96,0 % y 102,0 %, encontrándose, por tanto, todos los valores obtenidos dentro del límite establecido de 90-107 %. Por otro lado el coeficiente de variación obtenido muestra igualmente, que existe una buena homogeneidad entre los diferentes resultados de recuperación obtenidos, siendo este valor inferior al establecido al inicio del estudio de 2,7 %.

Se realiza también el estudio estadístico de la t de Student, hallando un valor experimental de 3,342.

Por tanto se puede concluir que el estudio de recuperación de quetiapina fumarato en el swab empleado en la toma de la muestra para la metodología desarrollada para el análisis del principio activo es correcta y, por tanto, la metodología analítica propuesta es suficientemente exacta.

6.6- Robustez

Los resultados de la robustez, para cada uno de los experimentos realizados según lo que se indica en el apartado donde se describe la metodología a seguir para este estudio se demuestran a continuación. Para cada experimento, se presentan los resultados obtenidos en cuanto a la riqueza se refiere, tabuladas en diferentes tablas, junto con la media, la desviación estándar y el coeficiente de variación obtenido. Además dichos resultados, para cada uno de los experimentos, se representan gráficamente para observar la variación de los resultados obtenidos y se realiza un análisis de la varianza de un factor para ver si existen o no diferencias estadísticamente significativas entre las pequeñas pero deliberadas variaciones llevadas a cabo en cada experimento para el estudio de robustez.

6.6.1- Longitud de onda

	215 nm	220 nm	225 nm
#1	100,59 %	100,67 %	101,50 %
#2	100,83 %	100,31 %	99,17 %
#3	99,29 %	98,57 %	97,24 %
Media	100,24 %	99,85 %	99,30 %
SD	0,829	1,123	2,131
RSD	0,827	1,125	2,146

Tabla 46: Resultados de la recuperación en función de la longitud de onda

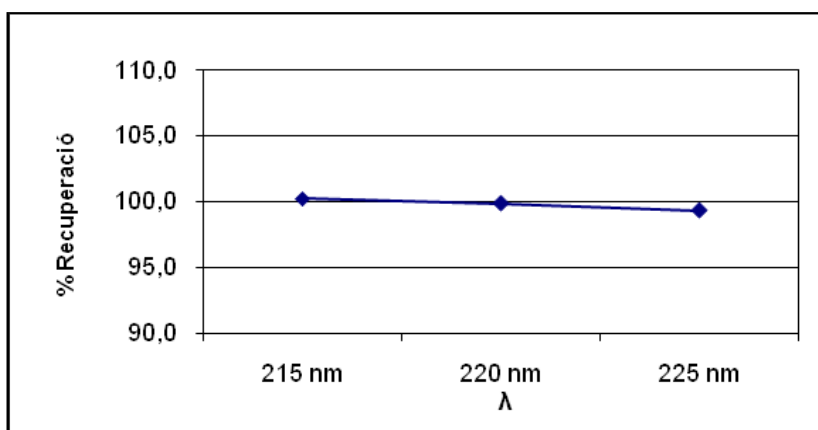


Figura 51: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función de la longitud de onda

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	300,71	100,236667	0,68653333
Columna 2	3	299,55	99,85	1,2612
Columna 3	3	297,910091	99,3033637	4,54252586

ANÁLISIS DE VARIANZA

Entre grupos	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medio de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para
Entre grupos	1,319376905	2	0,65968845	0,30492855	0,74795856	5,14325285
Dentro de los grupos	12,98051839	6	2,16341973			
Total	14,2998953	8				

Tabla 47: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para la longitud de onda

Tal y como se muestra en la tabla 46, las medias obtenidas para cada longitud de onda estudiada se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

Por otro lado, el resultado del ANOVA (Análisis de varianza para un factor), realizado de la respuesta obtenida para el estudio de la longitud de onda (tabla 47), indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las tres longitudes de onda estudiadas ya que la F experimental obtenida, 0,30 se encuentra muy por debajo de la F crítica o tabulada (5,14) por lo que se puede deducir que pequeñas pero deliberadas variaciones en lo que hace referencia a la longitud de onda no influye negativamente en el resultado de recuperación, demostrándose así la robustez del método en cuanto a la longitud de onda se refiere.

6.6.2- Volumen de inyección

	15 µl	20 µl	25 µl
#1	100,03 %	100,67 %	104,67 %
#2	101,33 %	100,31 %	99,37 %
#3	100,28 %	98,57 %	97,76 %
Media	100,55 %	99,85 %	100,60 %
SD	0,690	1,123	3,618
RSD	0,686	1,125	3,596

Tabla 48: Resultados de la recuperación en función del volumen de inyección

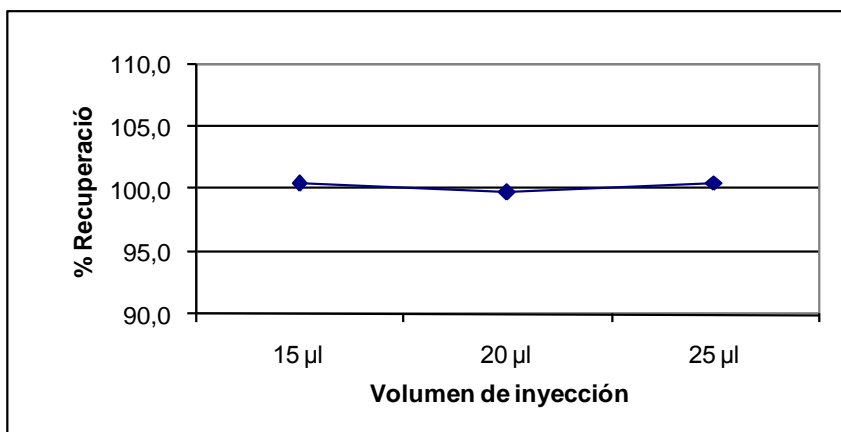


Figura 52: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del volumen de inyección

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
15 µl	3	301,64	100,546667	0,47583333
20 µl	3	299,55	99,85	1,2612
25 µl	3	301,7995192	100,59984	13,0897262

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para F
Entre grupos	1,050431452	2	0,52521573	0,1062705	0,90083644	5,14324938
Dentro de los grupos	29,65351905	6	4,94225318			
Total	30,7039505	8				

Tabla 49: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el volumen de inyección.

Tal y como se muestra en la tabla 48, las medias obtenidas para cada volumen de inyección estudiado se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

El resultado del ANOVA (Análisis de varianza para un factor), realizado de la respuesta obtenida para el estudio del volumen de inyección (tabla 49), indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres volúmenes de inyección estudiados ya que la F experimental obtenida, 0,11 se encuentra muy por debajo de la F crítica o tabulada (5,14) por lo que se puede observar que pequeñas pero deliberadas variaciones en lo que hace referencia al volumen de inyección no influye negativamente en el resultado de recuperación, demostrándose así la robustez del método en cuanto al volumen de inyección se refiere.

6.6.3- Temperatura de la columna

	30°C	35°C	40°C
#1	99,74 %	100,67 %	101,08 %
#2	105,75 %	100,31 %	101,77 %
#3	99,11 %	98,57 %	101,23 %
Media	101,53 %	99,85 %	101,36 %
SD	3,663	1,123	0,366
RSD	3,608	1,125	0,361

Tabla 50: Resultados de la recuperación en función de la temperatura de la columna

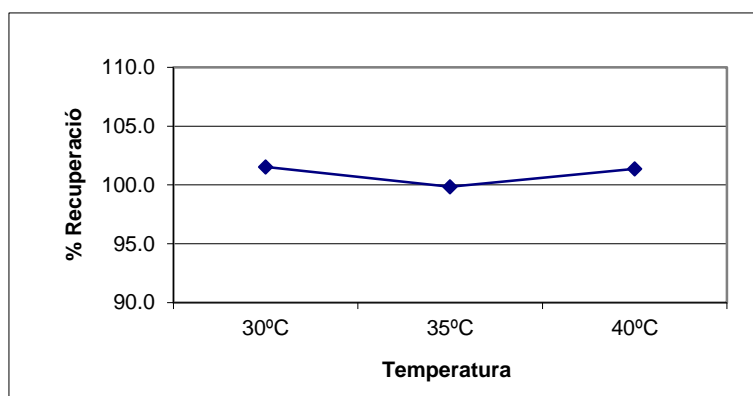


Figura 53: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función de la temperatura de la columna

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	304,6002138	101,533405	13,4179539
Columna 2	3	299,55	99,85	1,2612
Columna 3	3	304,0746715	101,358224	0,13373049

ANÁLISIS DE VARIANZA

Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medio cuadrado	F	Probabilidad > F	Valor crítico para F
Entre grupos	2	2,56963925	0,52041976	0,6188429	5,14324938
Dentro de los grupos	6	4,93762813			
Total	8				

Tabla 51: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para la temperatura de la columna.

Tal y como se muestra en la tabla 50, las medias obtenidas para cada temperatura estudiada se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

Por otro lado, el resultado del ANOVA (Análisis de varianza para un factor), realizado de la respuesta obtenida para el estudio de la temperatura de la columna (tabla 51), indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las tres temperaturas de la columna estudiadas ya que la F experimental obtenida, 0,52 se encuentra muy por debajo de la F crítica o tabulada (5,14) por lo que se puede deducir que pequeñas pero deliberadas variaciones en lo que hace referencia a la temperatura de la columna no influye negativamente en el resultado de recuperación, demostrándose así la robustez del método en cuanto a la temperatura de la columna se refiere.

6.6.4- Flujo

Tal y como se muestra en la tabla 52, las medias obtenidas para cada flujo estudiado se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

	1,3 ml/min	1,5 ml/min	1,7 ml/min
#1	100,77 %	100,67 %	100,36 %
#2	101,52 %	100,31 %	101,24 %
#3	100,73 %	98,57 %	100,58 %
Media	101,01 %	99,85 %	100,73 %
SD	0,443	1,123	0,460
RSD	0,438	1,125	0,457

Tabla 52: Resultados de la recuperación en función del flujo

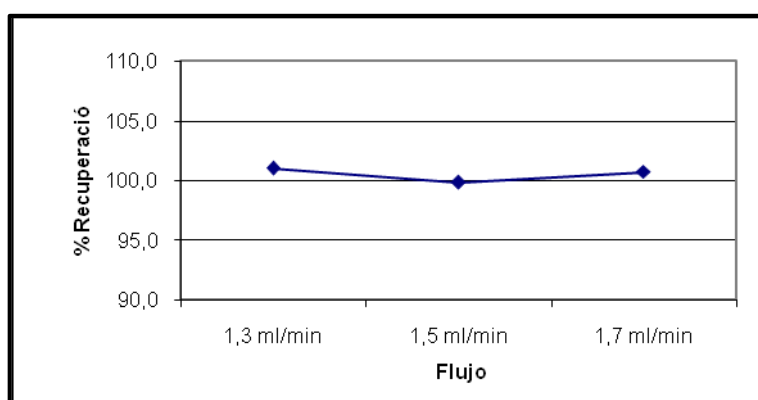


Figura 54: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del flujo

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	303,0208187	101,00694	0,19603849
Columna 2	3	299,55	99,85	1,2612
Columna 3	3	302,1827322	100,727577	0,21179494

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado de los cuadrados	F	Probabilidad	Valor crítico para
Entre grupos	2,186694469	2	1,09334723	1,96523427	0,22056903	5,14324938
Dentro de los grupos	3,338066863	6	0,55634448			
Total	5,524761332	8				

Tabla 53: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el flujo

El resultado del ANOVA (Análisis de varianza para un factor), realizado de la respuesta obtenida para el estudio del flujo (tabla 53), indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres flujos estudiados ya que la F experimental obtenida, 1,97 se encuentra muy por debajo de la F crítica o tabulada (5,14) por lo que se puede observar que pequeñas pero deliberadas variaciones en lo que hace referencia al flujo no influye negativamente en el resultado de recuperación, demostrándose así la robustez del método en cuanto al flujo se refiere.

6.6.5- Porcentaje solución reguladora

Tal y como se muestra en la tabla 54, las medias obtenidas para cada proporción en solución reguladora estudiada se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

	55 / 45 %	60 / 40%	65 / 35 %
#1	101,73%	100,67%	100,30%
#2	99,79%	100,31%	103,58%
#3	99,76%	98,57%	102,59%
Media	100,43 %	99,85%	102,16%
SD	1,126	1,123	1,681
RSD	1,121	1,125	1,646

Tabla 54: Resultados de la recuperación en función de la proporción en solución reguladora

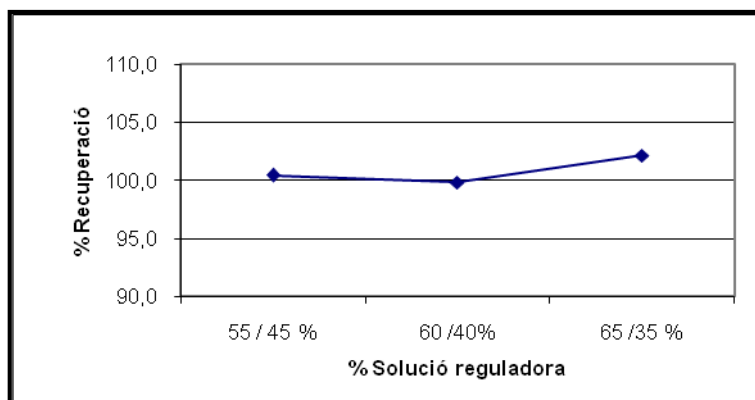


Figura 55: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del porcentaje de la solución reguladora

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	301,2826761	100,427559	1,26810408
Columna 2	3	299,55	99,85	1,2612
Columna 3	3	306,4761943	102,158731	2,82676214

ANÁLISIS DE VARIANZA

Origen de las variaciones	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Cuadrado medio	F	Probabilidad	Valor crítico para
Entre grupos	8,660773966	2	4,33038698	2,42550417	0,16906101	5,14324938
Dentro de los grupos	10,71213243	6	1,78535541			
Total	19,3729064	8				

Tabla 55: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el porcentaje de la solución patrón

El resultado del ANOVA (Análisis de varianza para un factor), realizado de la respuesta obtenida para el estudio de la proporción en solución reguladora (tabla 55), indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre las tres proporciones en solución reguladora estudiadas ya que la F experimental obtenida, 2,43 se encuentra muy por debajo de la F crítica o tabulada (5,14) por lo que se puede deducir que pequeñas pero deliberadas variaciones en lo que hace referencia a la proporción en solución reguladora no influye negativamente en el resultado de recuperación, demostrándose así la robustez del método en cuanto a la proporción en solución reguladora se refiere.

6.6.6- pH solución reguladora

Tal y como se muestra en la tabla 56, las medias obtenidas para cada pH de la solución reguladora estudiado se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

	pH 6,5	pH 7	pH 7,5
#1	99,41 %	100,67 %	99,64 %
#2	99,84 %	100,31 %	98,72 %
#3	100,07 %	98,57 %	98,17 %
Media	99,77 %	99,85 %	98,84 %
SD	0,334	1,123	0,747
RSD	0,335	1,125	0,755

Tabla 56: Resultados de la recuperación en función del pH de la solución reguladora

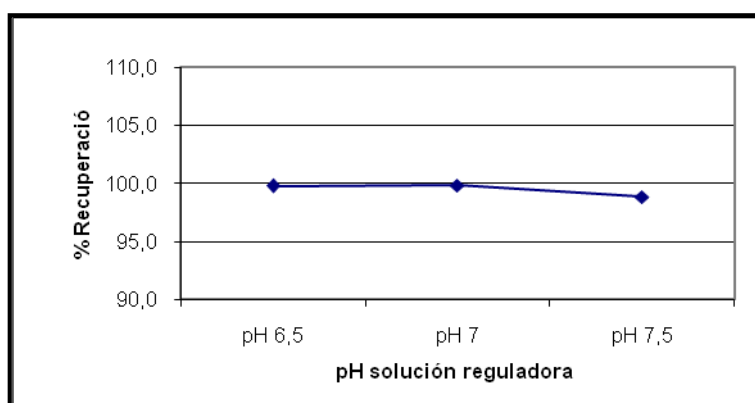


Figura 56: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del pH de la solución reguladora

Análisis de varianza de un factor

RESUMEN

Grupos	Cuenta	Suma	Promedio	Varianza
Columna 1	3	299,310949	99,7703163	0,11165729
Columna 2	3	299,55	99,85	1,2612
Columna 3	3	296,5313076	98,8437692	0,55752295

ANÁLISIS DE VARIANZA

gen de las variaci	Suma de cuadrados	Grados de libertad	Medio de los cua	F	Probabilidad	tlor crítico para
Entre grupos	1,877339562	2	0,93866978	1,45878479	0,30458901	5,14324938
Dentro de los grup	3,860760481	6	0,64346008			
Total	5,738100043	8				

Tabla 57: Resumen estadístico del análisis de la varianza de un factor, realizado de la respuesta obtenida para el pH de la solución reguladora

El resultado del ANOVA (Análisis de varianza para un factor), realizado de la respuesta obtenida para el estudio del pH de la solución reguladora (tabla 57), indica que no hay diferencias estadísticamente significativas entre los tres pH de la solución reguladora estudiados ya que la F experimental obtenida, 1,46 se encuentra muy por debajo de la F crítica o tabulada (5,14) por lo que se puede deducir que pequeñas pero deliberadas variaciones en lo que hace referencia al pH de la solución reguladora no influye negativamente en el resultado de recuperación, demostrándose así la robustez del método en cuanto al pH de la solución reguladora se refiere.

6.6.7- Columna

Tal y como se muestra en la tabla 58, las medias obtenidas para cada lote de columna estudiado se encuentran dentro de las especificaciones establecidas de 95-105%.

	B10049	B11021
#1	100,21 %	99,52 %
#2	100,11 %	97,35 %
#3	100,23 %	93,83 %
Media	100,18 %	96,90 %
SD	0,065	2,870
RSD	0,065	2,962

Tabla 58: Resultados de la recuperación en función del lote de la columna

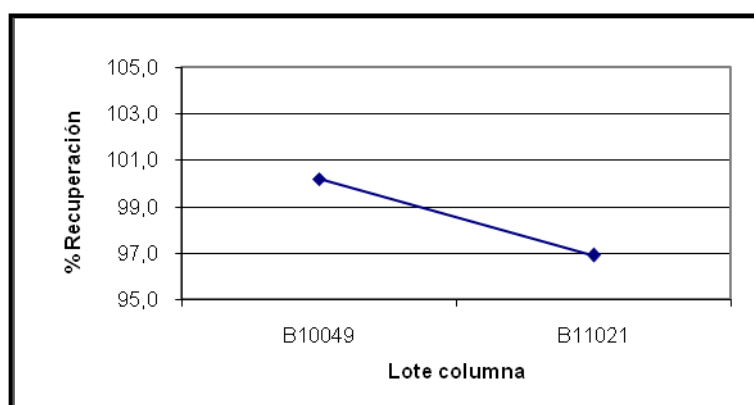


Figura 57: Gráfico correspondiente a la variación de la recuperación en función del lote de la columna

Prueba t para dos muestras suponiendo varianzas iguales

	<i>Variable 1</i>	<i>Variable 2</i>
Media	100,1797465	96,90100042
Varianza	0,004264035	8,236464665
Observaciones	3	3
Varianza agrupada	4,12036435	
Diferencia hipotétic	0	
Grados de libertad	4	
Estadístico t	1,97827015	
P(T<=t) una cola	0,059518503	
Valor crítico de t (u	2,131846486	
P(T<=t) dos colas	0,119037005	
Valor crítico de t (d	2,776450856	

Tabla 59: Análisis de variable columna

La prueba de significación de t Student demuestra que no hay diferencia entre los promedios dando que el t calculado es inferior al valor crítico de t.

Según los resultados obtenidos para el estudio de robustez, se puede constatar que pequeños pero deliberados cambios en los parámetros cromatográficos como la columna, flujo, porcentaje solución reguladora, pH y temperatura no influyen estadísticamente en la respuesta estudiada por lo que el método propuesto puede utilizarse de forma rutinaria para su preposito.

6.7- Estabilidad de la solución

En la tabla 60, se resumen los resultados obtenidos para el estudio de estabilidad de la solución patrón de quetiapina fumarato correspondiente al 100% del límite de aceptación (4 ppm). Se muestra el porcentaje obtenido a cada tiempo considerando que el tiempo cero corresponde al 100%. En la figura 58 se muestran gráficamente los resultados obtenidos.

Tiempo	Area (mAU*min)	Recuperación %
0 horas	3,207	100,00
1 hora	3,216	100,26
2 horas	3,196	99,63
3 horas	3,207	99,97
4 horas	3,203	99,85
5 horas	3,223	100,46
6 horas	3,208	100,02
7 horas	3,215	100,22
8 horas	3,209	100,04
9 horas	3,233	100,79
11 horas	3,220	100,38
12 horas	3,209	100,04
24 horas	3,252	101,40
48 horas	3,249	101,30
144 horas	3,270	101,94

Tabla 60: Resumen de los resultados obtenidos en el estudio de estabilidad de la solución patrón de quetiapina fumarato.

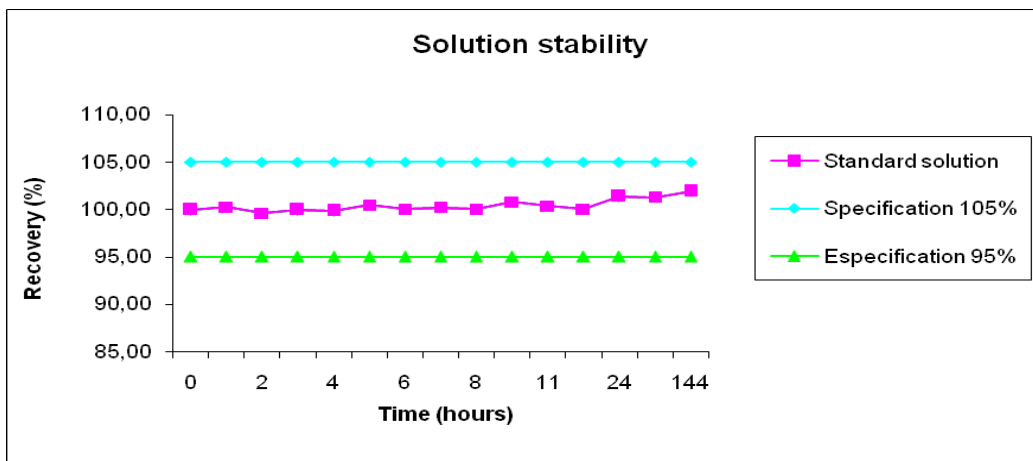


Figura 58: Gráfica correspondiente al estudio de estabilidad de la solución patrón.

No se observa, ninguna disminución del porcentaje de recuperación a cada tiempo, todos los resultados registrados quedan en el intervalo de 99% y 101%, resultados que gráficamente (figura 58) quedan claramente indicados. Por tanto se puede concluir que la solución patrón de quetiapina fumarato es estable por un periodo de 144 horas mantenidas a temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ y sin proteger de la luz. Las figuras 59 y 60 muestran dos cromatogramas que lo ilustran.

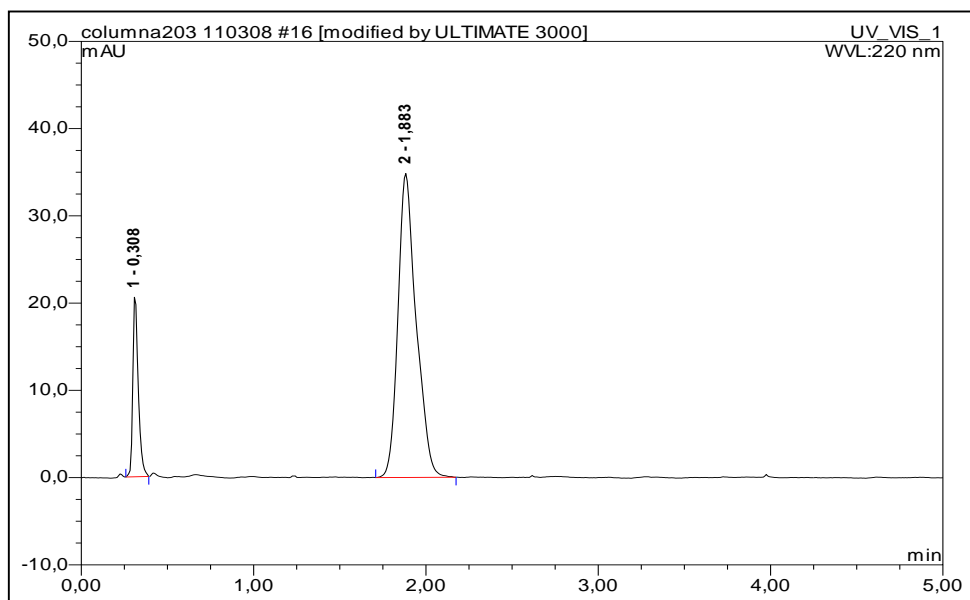


Figura 59: Cromatograma correspondiente al estudio de estabilidad de la solución de patrón quetiapina fumarato (tiempo cero)

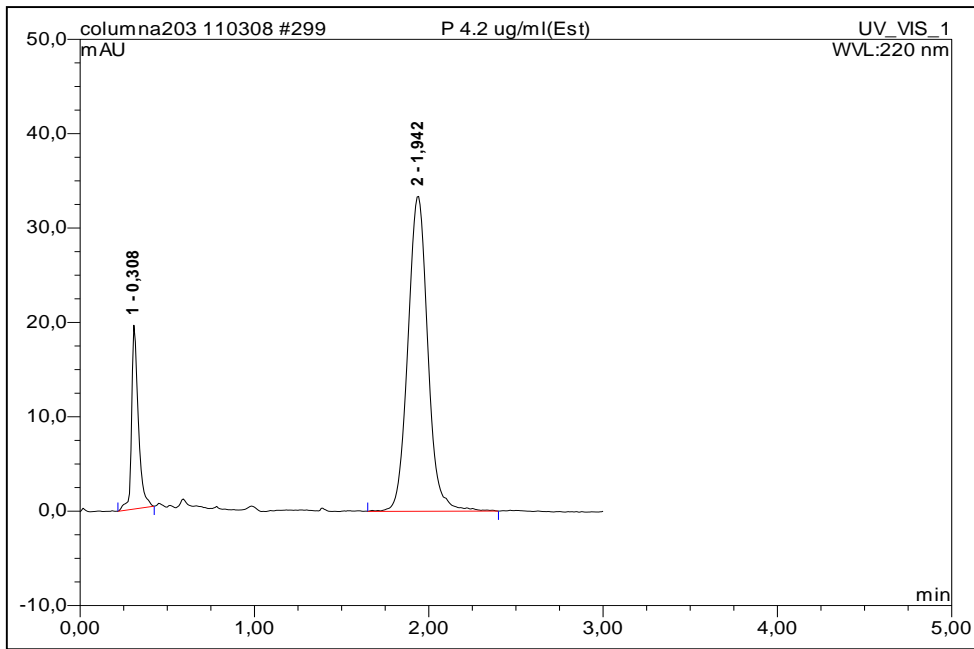


Figura 60: Cromatograma correspondiente al estudio de estabilidad de la solución de patrón quetiapina fumarato (tiempo 120 horas)

7- Estudio de recuperación

Para calcular el factor de recuperación se trabaja con tres concentraciones 0,25; 4 y 6 ppm y el ensayo se repite tres; siete y tres veces respectivamente. Se utilizan dos tipos de material de construcción (acero inoxidable y plástico rígido blanco 10 x 10 cm) (ver figura 61). Se inocula el API sobre la superficie de manera homogénea y se deja secar la placa, se utilizan a continuación dos swabs uno mojado y otro seco para recoger la muestra que se diluyó en 10 mL de fase móvil y se deja agitando 10 min, según el método comentado en la parte metodología (apartado estudio de recuperación).

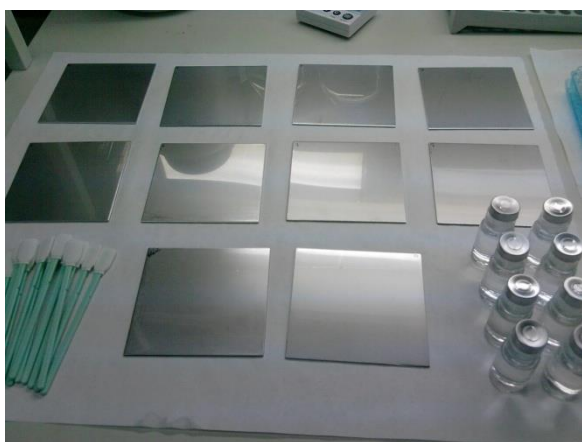


Figura 61: Material utilizado para el estudio de recuperación

A partir de los resultados obtenidos que aparecen en las tablas 61 para acero inoxidable y 62 para el plástico, se ve que tanto para las placas de acero inoxidable como para el plástico el factor de recuperación obtenido está por encima del 85 % y con un coeficiente de variación menor del 6%. Lo cual cumple con las recomendaciones de la FDA (Shifflet y Shapiro, 2002).

Esto demuestra que el procedimiento de muestreo es correcto y adecuado para la toma de muestras de residuos en un rango muy grande de concentraciones.

Sabiendo que el factor de recuperación se aplica para corregir los valores encontrados al analizar las muestras, se tendrá en cuenta para cada tipo de material el factor de recuperación que se tiene que aplicar a la hora de analizar las muestras tomadas directamente de los equipos: un 93% para el acero inoxidable y un 98,71% para el plástico.

	0,25 ppm	4 ppm	6 ppm
Acero inoxidable	96,14	88,42	95,45
	91,84	90,52	95,13
	96,67	83,22	95,58
	-	86,98	-
	-	92,06	-
	-	90,08	-
	-	90,00	-
%	94,88	88,76	95,39
CV	2,79	3,29	0,24
FR medio	93,01		
FR CV	3,97		

Tabla 61: Factores de recuperación calculados para el acero inoxidable

	0,25 ppm	4 ppm	6 ppm
Plástico	103,02	88,92	100,81
	100,07	95,34	99,66
	100,09	93,81	102,60
	-	92,87	-
	-	87,39	-
	-	103,98	-
	-	96,04	-
%	101,76	94,05	101,02
CV	1,68	5,76	1,47
FR medio	98,71		
FR CV	4,09		

Tabla 62: Factores de recuperación calculados para el plástico

8- Optimización del proceso de limpieza

Se hace un diseño factorial fraccionado de cuatro factores y tres niveles (en las tablas 25 y 26 del apartado bibliografía se detallan las condiciones ensayadas de cada lote planificado):

- 1.- Detergente: 3 niveles (Sin detergente 0%; 5% de detergente y 10% de detergente)
- 2.- Tiempo de contacto del detergente con la superficie del equipo (1; 5,5 y 10 minutos)
- 3.- Temperatura del agua de aclarado (34,0; 52,0 y 70,0°C)
- 4.- Acción mecánica, es el tiempo establecido para el frotado del equipo a limpiar (0 sin frotar; 0,5 y 1 minuto)

A continuación en la tabla 63, se listan los resultados de los tres replicados de las diferentes combinaciones o lotes y los puntos críticos analizados del equipo.

LOTE1

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	1,057	1,063	1,070	1,063	1,228	1,20	10,235
pc2	0,252	0,251	0,249	0,251	0,290	20,34	0,142
pc3	0,492	0,493	0,497	0,494	0,571	25,00	0,228
pc4	0,371	0,374	0,379	0,375	0,433	25,00	0,173
pc5	0,121	0,126	0,116	0,121	0,140	25,00	0,056
pc6	1,691	1,696	1,697	1,695	1,958	25,00	0,783
pc7	0,135	0,130	0,138	0,134	0,155	25,00	0,062
pc8	0,171	0,178	0,178	0,176	0,203	5,50	0,369

LOTE 2

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,307	0,315	0,328	0,316	0,375	1,20	3,125
pc2	4,026	4,001	3,997	4,008	4,752	20,34	2,337
pc3	0,334	0,324	0,332	0,330	0,391	25,00	0,157
pc4	0,351	0,353	0,353	0,352	0,417	25,00	0,167
pc5	4,517	4,472	4,510	4,500	5,335	25,00	2,134
pc6	1,109	1,125	1,112	1,115	1,322	25,00	0,529
pc7	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	25,00	0,000
pc8	1,494	1,498	1,513	1,502	1,780	5,50	3,237

LOTE 3

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	1,780	1,773	1,779	1,777	2,107	20,34	1,036
pc3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	25,00	0,000
pc4	1,845	1,895	1,919	1,886	2,236	25,00	0,895
pc5	1,561	1,551	1,498	1,537	1,822	25,00	0,729
pc6	1,215	1,218	1,218	1,217	1,443	25,00	0,577
pc7	1,178	1,180	1,181	1,180	1,399	25,00	0,560
pc8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	5,50	0,000

LOTE 4

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	0,676	0,685	0,678	0,680	0,806	20,34	0,396
pc3	0,458	0,461	0,461	0,460	0,545	25,00	0,218
pc4	0,721	0,745	0,712	0,726	0,861	25,00	0,344
pc5	1,281	1,271	1,309	1,287	1,526	25,00	0,610
pc6	0,532	0,544	0,531	0,536	0,635	25,00	0,254
pc7	0,331	0,316	0,324	0,324	0,384	25,00	0,154
pc8	0,198	0,204	0,202	0,201	0,239	5,50	0,434

LOTE 5

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	0,224	0,203	0,225	0,217	0,257	20,34	0,126
pc3	0,105	0,059	0,065	0,076	0,090	25,00	0,036
pc4	0,051	0,037	0,033	0,040	0,048	25,00	0,019
pc5	0,502	0,507	0,503	0,504	0,597	25,00	0,239
pc6	0,460	0,457	0,453	0,457	0,542	25,00	0,217
pc7	0,200	0,233	0,238	0,224	0,265	25,00	0,106
pc8	0,134	0,188	0,157	0,160	0,189	5,50	0,344

LOTE 6

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,058	0,051	0,052	0,053	0,063	1,20	0,528
pc2	4,146	4,174	4,172	4,164	4,937	20,34	2,428
pc3	0,060	0,060	0,056	0,059	0,070	25,00	0,028
pc4	0,080	0,092	0,097	0,089	0,106	25,00	0,042
pc5	1,609	1,599	1,614	1,607	1,906	25,00	0,762
pc6	0,804	0,778	0,801	0,795	0,942	25,00	0,377
pc7	0,061	0,065	0,075	0,067	0,079	25,00	0,032
pc8	0,090	0,076	0,084	0,084	0,099	5,50	0,180

LOTE 7

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	1,008	1,017	1,014	1,013	1,170	1,20	9,751
pc2	2,134	2,129	2,140	2,134	2,465	20,34	1,212
pc3	0,860	0,864	0,854	0,859	0,992	25,00	0,397
pc4	1,922	1,925	1,916	1,921	2,219	25,00	0,888
pc5	0,756	0,767	0,758	0,760	0,878	25,00	0,351
pc6	1,654	1,665	1,656	1,658	1,915	25,00	0,766
pc7	1,203	1,213	1,222	1,213	1,401	25,00	0,560
pc8	0,887	0,900	0,908	0,898	1,038	5,50	1,887

LOTE 8

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	0,753	0,764	0,753	0,757	0,897	20,34	0,441
pc3	0,174	0,165	0,167	0,169	0,200	25,00	0,080
pc4	0,638	0,614	0,607	0,620	0,735	25,00	0,294
pc5	0,766	0,761	0,771	0,766	0,908	25,00	0,363
pc6	0,995	1,010	1,008	1,004	1,190	25,00	0,476
pc7	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	25,00	0,000
pc8	1,6173	1,633	1,629	1,626	1,928	5,50	3,506

LOTE 9

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	0,232	0,220	0,220	0,224	0,266	20,34	0,131
pc3	0,047	0,043	0,051	0,047	0,056	25,00	0,022
pc4	0,062	0,072	0,075	0,070	0,082	25,00	0,033
pc5	0,387	0,397	0,401	0,395	0,468	25,00	0,187
pc6	0,792	0,852	0,767	0,804	0,953	25,00	0,381
pc7	0,081	0,097	0,089	0,089	0,105	25,00	0,042
pc8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	5,50	0,000

LOTE10

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	1,272	1,270	1,281	1,274	1,472	1,20	12,265
pc2	2,092	2,107	2,108	2,102	2,428	20,34	1,194
pc3	0,847	0,856	0,861	0,855	0,987	25,00	0,395
pc4	1,973	1,973	1,962	1,970	2,275	25,00	0,910
pc5	1,784	1,790	1,767	1,780	2,056	25,00	0,823
pc6	0,714	0,733	0,723	0,723	0,836	25,00	0,334
pc7	0,533	0,537	0,536	0,535	0,618	25,00	0,247
pc8	1,181	1,175	1,176	1,177	1,360	5,50	2,472

LOTE11

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,871	0,874	0,885	0,876	1,039	1,20	8,658
pc2*	400,573	400,689	400,826	400,696	475,073	20,34	233,619
pc3	1,878	1,878	1,879	1,878	2,227	25,00	0,891
pc4	3,582	3,558	3,593	3,577	4,242	25,00	1,697
pc5	0,719	0,708	0,719	0,715	0,848	25,00	0,339
pc6	2,213	2,228	2,196	2,212	2,623	25,00	1,049
pc7	0,914	0,849	0,921	0,895	1,061	25,00	0,424
pc8	0,784	0,758	0,769	0,770	0,913	5,50	1,661

*Probablemente se trata de un error de muestreo. No se tiene en cuenta. Se llevó a cabo un test de Dixon y se asumió que era un resultado anómalo.

LOTE12

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,633	0,644	0,635	0,637	0,736	1,20	6,134
pc2	95,527	95,274	95,543	95,448	110,248	20,34	54,215
pc3	0,925	0,921	0,923	0,923	1,066	25,00	0,426
pc4	3,394	3,392	3,387	3,391	3,917	25,00	1,567
pc5	0,738	0,730	0,737	0,735	0,848	25,00	0,339
pc6	1,877	1,882	1,899	1,886	2,179	25,00	0,871
pc7	2,773	2,781	2,769	2,774	3,204	25,00	1,282
pc8	1,787	1,797	1,795	1,793	2,071	5,50	3,766

LOTE13

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,505	0,508	0,502	0,505	0,583	1,20	4,859
pc2	112,736	112,518	112,505	112,586	130,044	20,34	63,950
pc3	1,191	1,199	1,187	1,192	1,377	25,00	0,551
pc4	3,097	3,097	3,104	3,100	3,580	25,00	1,432
pc5	1,754	1,746	1,735	1,745	2,016	25,00	0,806
pc6	1,798	1,795	1,788	1,794	2,072	25,00	0,829
pc7	1,137	1,132	1,139	1,136	1,312	25,00	0,525
pc8	0,569	0,567	0,574	0,570	0,658	5,50	1,197

LOTE14

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,584	0,584	0,588	0,585	0,694	1,20	5,784
pc2	0,706	0,716	0,742	0,721	0,855	20,34	0,420
pc3	2,775	2,750	2,757	2,760	3,273	25,00	1,309
pc4	2,920	2,889	2,894	2,901	3,440	25,00	1,376
pc5	0,591	0,541	0,541	0,558	0,661	25,00	0,264
pc6	1,042	1,036	1,044	1,041	1,234	25,00	0,494
pc7	0,153	0,246	0,251	0,217	0,257	25,00	0,103
pc8	0,516	0,521	0,514	0,517	0,613	5,50	1,115

LOTE15

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,369	0,362	0,378	0,370	0,427	1,20	3,557
pc2	7,298	7,299	7,342	7,313	8,447	20,34	4,154
pc3	0,459	0,456	0,470	0,462	0,533	25,00	0,213
pc4	0,907	0,901	0,897	0,902	1,041	25,00	0,417
pc5	0,420	0,430	0,421	0,423	0,489	25,00	0,196
pc6	3,041	3,050	3,052	3,047	3,520	25,00	1,408
pc7	0,772	0,759	0,765	0,766	0,884	25,00	0,354
pc8	0,203	0,206	0,201	0,203	0,235	5,50	0,427

LOTE16

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	0,139	0,115	0,137	0,130	0,155	20,34	0,076
pc3	0,089	0,089	0,091	0,089	0,106	25,00	0,042
pc4	0,066	0,059	0,056	0,060	0,071	25,00	0,029
pc5	0,170	0,159	0,164	0,164	0,194	25,00	0,078
pc6	0,710	0,689	0,689	0,696	0,825	25,00	0,330
pc7	0,164	0,163	0,160	0,162	0,192	25,00	0,077
pc8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	5,50	0,000

LOTE17

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,119	0,117	0,125	0,120	0,139	1,20	1,158
pc2	3,570	3,564	3,590	3,575	4,129	20,34	2,031
pc3	0,202	0,196	0,195	0,198	0,228	25,00	0,091
pc4	0,443	0,442	0,437	0,441	0,509	25,00	0,204
pc5	0,682	0,666	0,656	0,668	0,771	25,00	0,309
pc6	1,694	1,703	1,703	1,700	1,963	25,00	0,785
pc7	0,335	0,337	0,330	0,334	0,386	25,00	0,154
pc8	0,133	0,128	0,121	0,127	0,147	5,50	0,267

LOTE18

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,228	0,229	0,224	0,227	0,262	1,20	2,184
pc2	70,207	70,646	70,1633	70,339	81,246	20,34	39,953
pc3	0,754	0,747	0,7626	0,754	0,871	25,00	0,349
pc4	1,031	1,024	1,0246	1,027	1,186	25,00	0,474
pc5	0,357	0,366	0,3619	0,362	0,418	25,00	0,167
pc6	2,965	2,958	2,9616	2,961	3,421	25,00	1,368
pc7	0,408	0,400	0,4066	0,405	0,468	25,00	0,187
pc8	1,286	1,286	1,276	1,283	1,482	5,50	2,694

LOTE19

	#1	#2	#3	Media	Conc. hallada	Superficie	µg/cm ²
pc1	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	1,20	0,000
pc2	3,770	4,054	3,759	3,861	4,577	20,34	2,251
pc3	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	25,00	0,000
pc4	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	25,00	0,000
pc5	0,181	0,177	0,184	0,180	0,214	25,00	0,085
pc6	0,742	0,745	0,749	0,745	0,883	25,00	0,353
pc7	0,126	0,131	0,178	0,145	0,172	25,00	0,069
pc8	0,000	0,000	0,000	0,000	0,000	5,50	0,000

Tabla 63: Resultados de las diferentes combinaciones o lotes analizados por piezas muestreadas del equipo.

En la tabla 64 parecen los residuos medios de los tres ensayos llevados a cabo para cada punto de muestreo y combinación. Con estos datos se utilizó el programa Statgraphics Plus 5.0 que es un programa informático que nos permite confeccionar matrices de diseño de experimentos de una manera guiada, y se analizó estadísticamente para determinar los factores principales y el espacio de diseño.

Lote	pc1	pc2	pc3	pc4	pc5	pc6	pc7	pc8
1	10,235	0,142	0,228	0,173	0,056	0,783	0,062	0,369
2	3,125	2,337	0,157	0,167	2,134	0,529	0,000	3,237
3	0,000	1,036	0,000	0,895	0,729	0,577	0,56	0,000
4	0,000	0,396	0,218	0,344	0,61	0,254	0,154	0,434
5	0,000	0,126	0,036	0,019	0,239	0,217	0,106	0,344
6	0,528	2,428	0,028	0,042	0,762	0,377	0,032	0,18
7	9,751	1,212	0,397	0,888	0,351	0,766	0,56	1,887
8	0,000	0,441	0,080	0,294	0,363	0,476	0,000	3,506
9	0,000	0,131	0,022	0,033	0,187	0,381	0,042	0,000
10	12,265	1,194	0,395	0,910	0,823	0,334	0,247	2,472
11	8,658	*233,619	0,891	1,697	0,339	1,049	0,424	1,661
12	6,134	54,215	0,426	1,567	0,339	0,871	1,282	3,766
13	4,859	63,950	0,551	1,432	0,806	0,829	0,525	1,197
14	5,784	0,420	1,309	1,376	0,264	0,494	0,103	1,115
15	3,557	4,154	0,213	0,417	0,196	1,408	0,354	0,427
16	0,000	0,076	0,042	0,029	0,078	0,330	0,077	0,000
17	1,158	2,031	0,091	0,204	0,309	0,785	0,154	0,267
18	2,184	39,953	0,349	0,474	0,167	1,368	0,187	2,694
19	0,000	2,251	0,000	0,000	0,085	0,353	0,069	0,000

*El punto pc2 del lote 11 se ha obviado en el análisis estadístico al ser anómalo (confirmado mediante test de Dixon)

Tabla 64: Resultados de los residuos medios por cada punto de muestreo.

Para el análisis estadístico los resultados se clasifican en tres grupos:

- Residuos medios (media de todos los puntos);
- Residuos en punzones (al ser la parte más crítica y contaminable) pc1 y pc2;
- Residuos en el resto del equipo.

8.1- Análisis de datos para residuo medio

Según el gráfico 1, el del diagrama de Pareto¹, que se construye representando los efectos en las ordenadas y en abscisas mediante una barra el valor absoluto de cada efecto y ordenando los efectos de mayor a menor, parece que tan solo la temperatura tenga un efecto estadísticamente significativo sobre los resultados de residuos, ya que supera el límite marcado como estadísticamente significativo (línea vertical), aunque hay que considerar que la combinación del tiempo de contacto y la temperatura (BC) está muy cercano a la línea. Para asegurar la significación de los efectos se analizan los resultados del análisis de la variancia que proporciona el programa Statgraphics Plus 5.0 (ver tabla 65).

Gráfico de Pareto estandarizado para Media

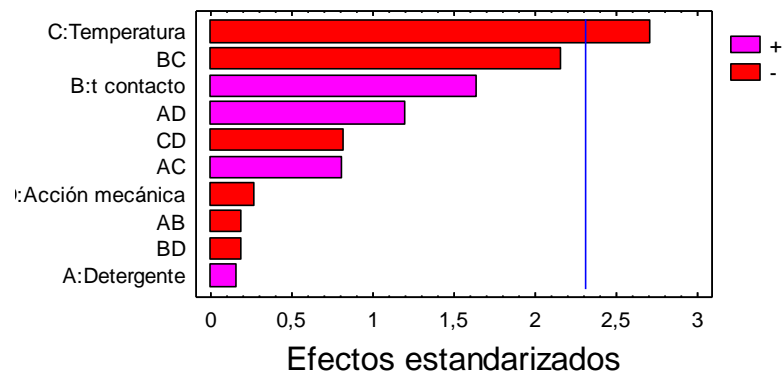


Gráfico 1: Diagrama de Pareto respecto a los residuos (medias).

Análisis de la Varianza para Media

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:Detergente	0,493128	1	0,493128	0,03	0,8778
B:t contacto	52,6315	1	52,6315	2,69	0,1395
C:Temperatura	143,507	1	143,507	7,34	0,0267
D:Acción mecánica	1,40491	1	1,40491	0,07	0,7954
AB	0,718244	1	0,718244	0,04	0,8528
AC	12,7754	1	12,7754	0,65	0,4423
AD	28,0563	1	28,0563	1,43	0,2652
BC	91,4651	1	91,4651	4,68	0,0625
BD	0,701474	1	0,701474	0,04	0,8545
CD	13,0499	1	13,0499	0,67	0,4376
Error Total	156,414	8	19,5517		
Total (corr.)	504,797	18			

R-cuadrado = 69,0145 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 30,2826 por ciento
Error Estándar de Est. = 4,42173
Error absoluto de la media = 2,39758
Estadístico Durbin-Watson = 2,273 (P=0,2719)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,218618

Tabla 65: ANOVA de los resultados de residuos (medias)

¹ Pareto definió que en la mayoría de los procesos industriales el 80% de la variabilidad estaba provocado por tan sólo un 20% de las causas. Este principio se ha aplicado para conocer las causas de defectos y su variabilidad ya que al eliminarlas se produce una mejora de la calidad. Habitualmente se representa en histogramas.

En la tabla 65 se compara la significación estadística de cada efecto comparando el cuadrado medio con una estimación del error experimental. En este caso un efecto tiene un valor de probabilidad menor de 0,05%, lo cual implica que sólo éste es significativamente diferente de cero con un 95% de probabilidad. Éste es la temperatura (°C).

El estadístico R^2 indica que el modelo ajustado explica el 69,01% de la variabilidad de la respuesta de residuos. El estadístico R^2 (ajustado para los grados de libertad de la experiencia), que es más adecuado para comparar modelos con diferentes números de variables independientes es 30,28%. El error estándar del ajustado muestra una desviación estándar de los residuales de 4,42. El error absoluto medio de 2,3976 es el valor medio de los residuales. El estadístico de Durbin-Watson (DW) indica si existe correlación significativa basada en el orden en que se dan los datos. Puesto que el p-valor es 2,237 superior a 0,05, probabilidad del 27%, no hay indicio de correlación de serie en los residuos.

8.1.1- Interpretación de los efectos principales sobre la media de los residuos

En este caso aparecen (gráfico 2) los 4 efectos principales. Dos de ellos (concentración del detergente y la acción mecánica) no tienen un efecto muy importante su línea es casi horizontal, para leer la gráfica se ha de pensar que en la parte izquierda el factor temperatura estaría en su nivel bajo (-1) y en la derecha en alto (+1). Para los factores concentración del detergente y la acción mecánica se puede ver que al pasar de bajo (-1) a alto (+1), la diferencia de residuo no es muy importante, la línea es casi horizontal.

Para la temperatura se ve que cuando está en nivel bajo (izquierda) hay más residuos ($5,6 \mu\text{g}/\text{cm}^2$) que cuando está en nivel alto (derecha, alrededor de $-0,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$). Para el tiempo de contacto el caso es diferente, cuando no hay tiempo de contacto el residuo es menor (alrededor de cero) y cuando pasa a nivel alto llega a su nivel máximo ($4,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$).

Por tanto, analizando estos factores individualmente se ve que para tener en mínimo residuo interesará trabajar con detergente en % bajo, tiempo contacto mínimo, con acción mecánica y temperatura alta.

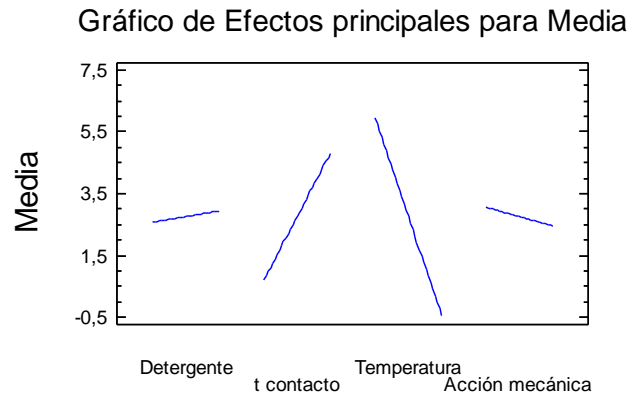


Gráfico 2: Representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre los residuos (medias)

8.1.2- Interpretación de los efectos de las interacciones sobre la media de los residuos

Para comprobar si estos factores interactúan entre ellos, se analiza la gráfica de interacción.

El gráfico que proporciona Statgraphics Plus 5.0 (gráfico 2) en que se muestra la variable estimada como una función de un par de factores. En cada representación gráfica figura un factor que varía de un nivel inferior (-1) al superior (+1) y la línea corresponde a los residuos cuando el segundo factor es mantenido en el nivel inferior (marcada en los extremos por el signo -), mientras que en la otra línea el segundo factor se mantiene en nivel alto (indicado por + en los extremos). Por ejemplo, para las dos primeras líneas del gráfico 2 (bajo la parte de las abscisas marcada con AB), la línea superior (marcada con +) corresponde a los residuos cuando se mantiene el nivel del factor B en nivel (+) y el factor A se modifica desde (-1,0) a (+1,0). Si las líneas (-) y (+) no se cruzan entre sí, implica que no existe interacción estadísticamente significativa entre ambos factores, como es en el caso de la interacción AB, AC y BC.

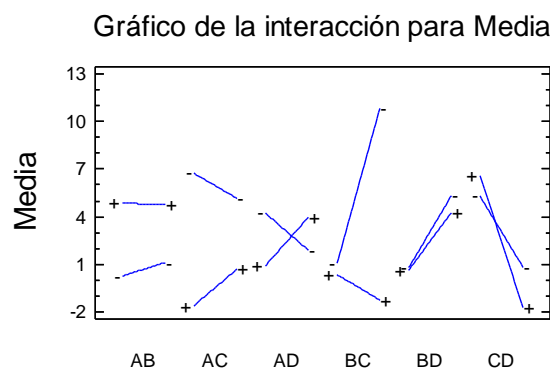


Gráfico 3: Gráfico proporcionado por Statgraphics Plus 5.0 para las seis interacciones: AB, AC, AD, BC, BD, CD. (Medias).

El programa informático proporciona otros gráficos que permiten relacionar dos variables (detergente y tiempo de contacto) a la vez (gráfico 4 y 5) sobre la respuesta residuos. En el caso del gráfico 4, cada vértice del cubo proporciona el valor que toma el residuo en las condiciones que reflejan las coordenadas (x, y, z). Puede observarse que el punto que proporciona el nivel de residuo más bajo es el que combina los factores en su nivel bajo (-,-,-). Es decir la menor cantidad de residuos se encuentra cuando menor concentración de detergente se usa y a menor tiempo de contacto, es decir cuando se limpia inmediatamente. Es evidente que cuando el tiempo de contacto aumenta el nivel de residuos aumenta.

No obstante aunque aumente el detergente el residuo no aumenta tanto, con lo cual se puede decir que la influencia del % de detergente no es tan importante para establecer las condiciones finales.

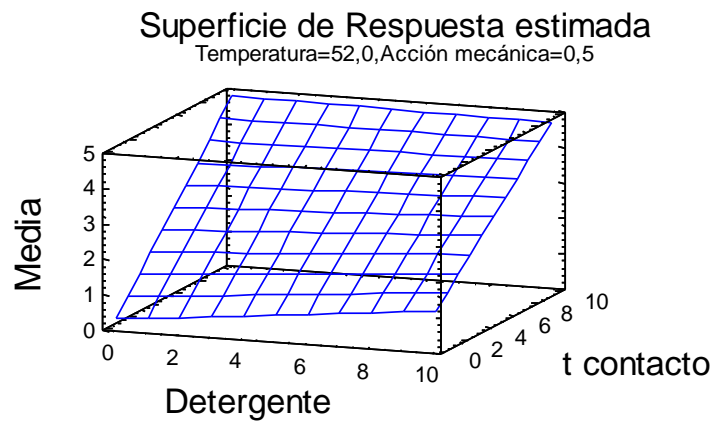


Gráfico 4: Gráfico de superficie de respuesta para los residuos (Medias)

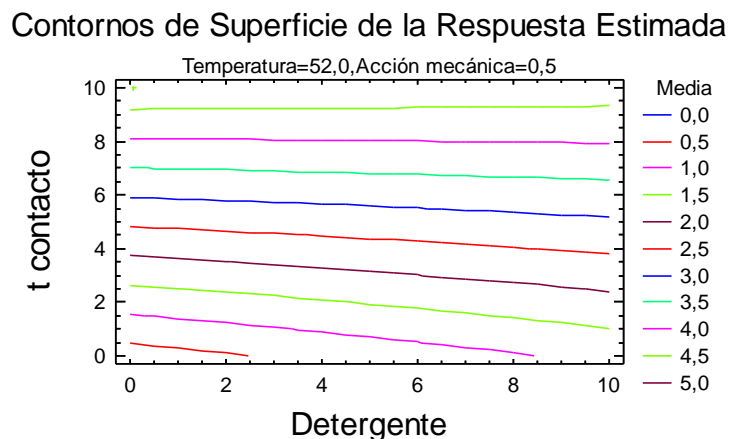


Gráfico 5: Gráfico de contornos de superficie de respuesta estimada para los residuos (Medias)

Utilizando el programa de Statgrafics, se ha podido optimizar el método de limpieza y el programa proporciona un método óptimo según el valor óptimo deseado (ver tabla 66 y 67). Estos datos se tendrán que confrontar con los 2 análisis posteriores y a partir de ellos se establecerán las pautas más idóneas para establecer el método de limpieza óptimo.

```

-----
Meta: minimizar la Media de los residuos

Valor Optimo = -4,94162

Factor          Inferior          Mayor          Optimo
-----
Detergente      0,0              10,0           0,0506608
t contacto      0,0              10,0           10,0
Temperatura     34,0            70,0           69,9516
Acción mecánica 0,0              1,0            1,0

```

Tabla 66: El método de limpieza óptimo para obtener un valor óptimo -4,94162 (Medias), según el programa.

```

-----
Meta: mantener Media en 0,0

Valor Optimo = 0,0

Factor          Inferior          Mayor          Optimo
-----
Detergente      0,0              10,0           4,76113
t contacto      0,0              10,0           0,418679
Temperatura     34,0            70,0           66,1735
Acción mecánica 0,0              1,0            0,706136

```

Tabla 67: El método de limpieza óptimo para el valor óptimo 0 (medias), especificado por el usuario al programa

8.2- Análisis para residuos en los punzones

Igual que para la media, según el diagrama de Pareto (gráfico 6), el factor temperatura supera el límite marcado como estadísticamente significativo (línea vertical) y la combinación del tiempo de contacto y la temperatura (BC) está muy cercano a la línea. Además los dos tienen un efecto negativo sobre los residuos.

Gráfico de Pareto estandarizado para Punzones

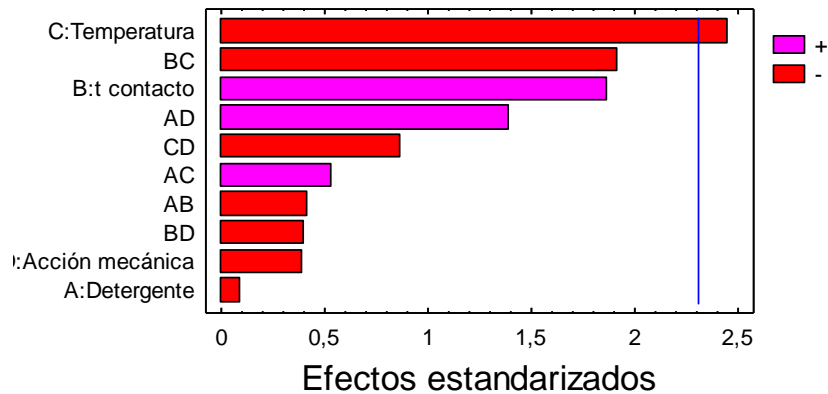


Gráfico 6: Diagrama de Pareto respecto a los residuos (punzones).

Análisis de la Varianza para Punzones

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:Detergente	0,647752	1	0,647752	0,01	0,9287
B:t contacto	264,798	1	264,798	3,49	0,0989
C:Temperatura	456,475	1	456,475	6,01	0,0399
D:Acción mecánica	11,8947	1	11,8947	0,16	0,7027
AB	13,3415	1	13,3415	0,18	0,6862
AC	21,3047	1	21,3047	0,28	0,6108
AD	147,243	1	147,243	1,94	0,2013
BC	279,579	1	279,579	3,68	0,0913
BD	12,0692	1	12,0692	0,16	0,7006
CD	57,2332	1	57,2332	0,75	0,4107
Error Total	607,744	8	75,968		
Total (corr.)	1908,76	18			

R-cuadrado = 68,1604 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 28,3608 por ciento
Error Estándar de Est. = 8,71596
Error absoluto de la media = 4,929
Estadístico Durbin-Watson = 2,05519 (P=0,4630)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,118006

Tabla 68: ANOVA de los resultados de residuos (punzones)

En la tabla 68 de ANOVA se asigna la significación estadística de cada efecto comparando el cuadrado medio con una estimación del error experimental. En este caso uno de los efectos (la temperatura) tiene los p-valores inferiores a 0,05, indicando que es significativamente diferentes de cero al 95,0% de nivel de confianza.

El estadístico R^2 indica que el modelo así ajustado explica el 68,1604% de la variabilidad en Punzones. El estadístico R^2 ajustado, el cual es más adecuado para la comparación de números diferentes de variables independientes, es 28,3608%. El error estándar de la estimación muestra la desviación normal de los residuos para ser 8,71596. El error absoluto de la media (MAE) de 4,929 es el promedio del valor de los residuos. El estadístico Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay cualquier correlación significativa basada en el orden en el que se suceden en el fichero de datos. Puesto que el p-valor es superior a 0.05, no hay indicios de correlación de serie en los residuos.

8.2.1- Interpretación de los efectos principales sobre los punzones

En el gráfico que corresponde a los efectos principales (gráfico 7) que proporciona Statgraphics Plus 5.0. El eje de abscisas muestra los niveles de los factores estudiados (% detergente; tiempo de contacto; temperatura y acción mecánica) las rectas dibujadas corresponden a como evoluciona la respuesta residuos cuando el factor estudiado pasa desde un nivel bajo hasta el nivel alto. Para la concentración del detergente la recta es casi horizontal lo que significa que no es un factor significativo. La pendiente de la recta del factor tiempo de contacto es positiva, es decir, se obtiene mayor cantidad en residuos si el factor pasa a su nivel alto. Para los factores (temperatura; acción mecánica) la recta presenta pendiente negativa, lo cual indica que es un factor que influye en la respuesta en sentido contrario es decir, a mayor temperatura y tiempo de frotado menor cantidad en residuos.

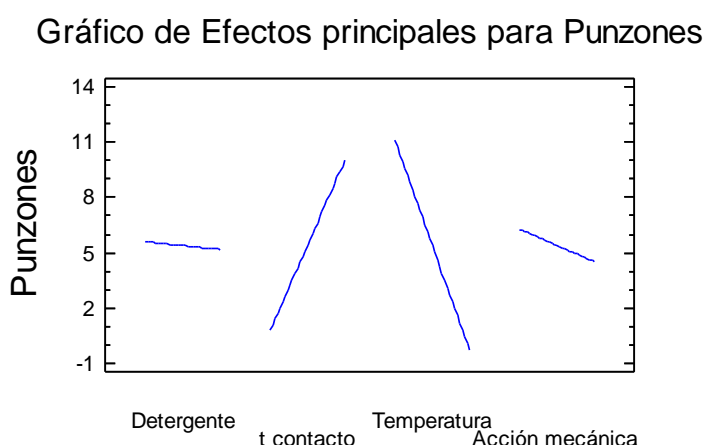


Gráfico 7: Representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre los residuos (punzones)

8.2.2- Interpretación de los efectos de las interacciones sobre los residuos de los punzones

Para analizar las interacciones, Statgraphics Plus 5.0 dispone de otro gráfico (gráfico 8) en que se dibujan las líneas correspondientes al valor de los residuos en los punzones según el nivel en que se encuentren los factores. De las seis interacciones estudiadas, tres líneas (-) y (+) se cruzan entre sí, esto implica que existe interacción estadísticamente significativa entre los factores, como es en el caso de la interacción AD, BD y CD.

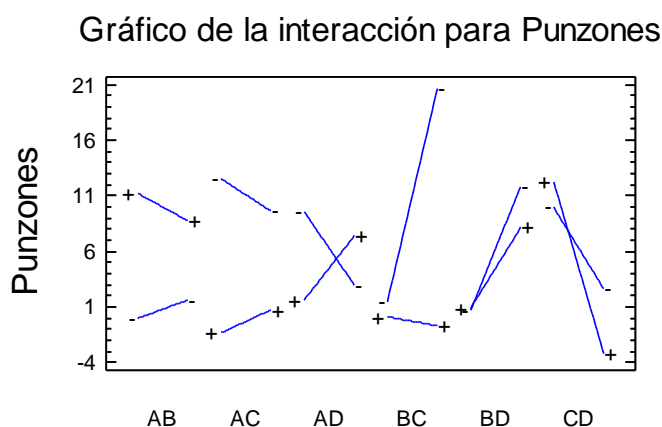


Gráfico 8: Gráfico proporcionado por Statgraphics Plus 5.0 para las seis interacciones: AB, AC, AD, BC BD, CD. (Punzones) Ver leyenda tabla 71.

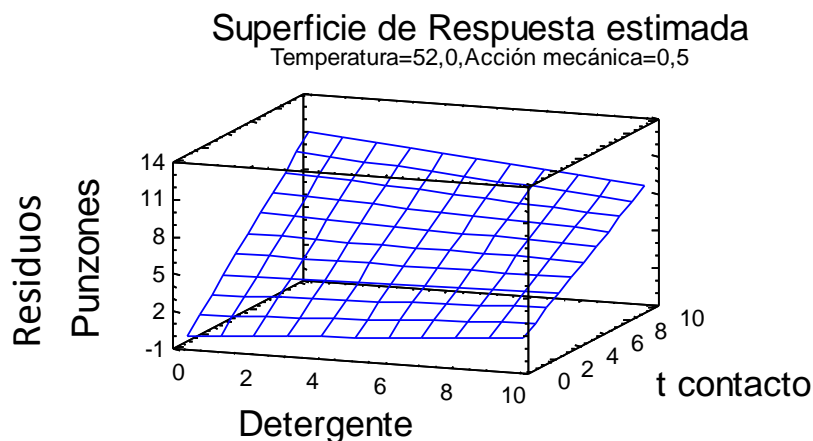


Gráfico 9: Gráfico de superficie de respuesta para los residuos (punzones)

Puede observarse en los gráficos de superficie de respuesta y de contornos de superficie de la respuesta estimada (ver gráfico 9 y 10) que la cantidad en residuos aumenta al aumentar la concentración del detergente y el tiempo de contacto.

Contornos de Superficie de la Respuesta Estimada

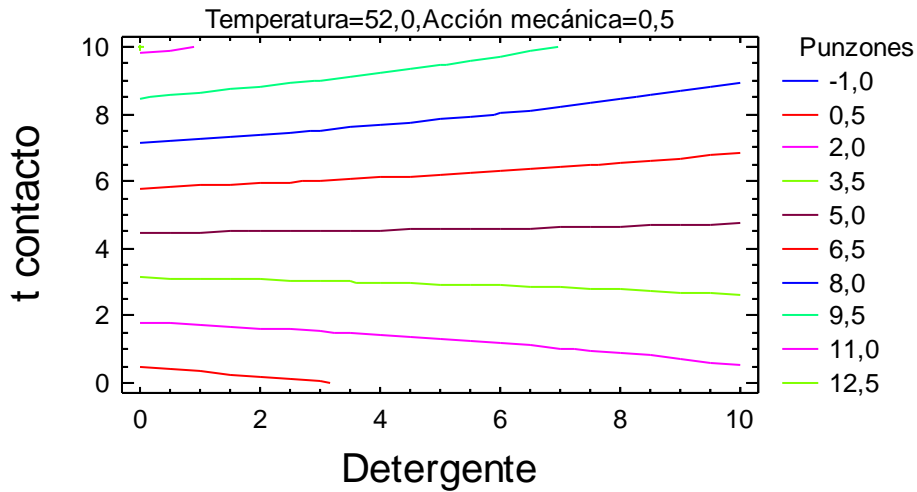


Gráfico 10: Gráfico de contornos de superficie de respuesta estimada para los residuos (punzones)

Según los resultados obtenidos, está claro qué combinación de factores minimiza los residuos en los punzones. Según la ecuación calculada (ver tabla 69) el valor óptimo sería $-7,65 \mu\text{g}/\text{cm}^2$, lo que se conseguiría con la combinación de factores (-,+ ,+ ,+), es decir concentración del detergente, $1,40109\text{E}-9$; tiempo de contacto, 10 minutos; temperatura $69,9956 \text{ }^\circ\text{C}$ y tiempo de frotado (acción mecánica), $0,999767$ minutos o lo que sería lo mismo: concentración de detergente: 0, 10 minutos de tiempo de contacto, temperatura alta 70°C y acción mecánica baja.

Respuesta Optimizada

Meta: minimizar residuos en Punzones

Valor Optimo = $-7,65309$

Factor	Inferior	Mayor	Optimo
Detergente	0,0	10,0	$1,40109\text{E}-9$
t contacto	0,0	10,0	10,0
Temperatura	34,0	70,0	69,9956
Acción mecánica	0,0	1,0	0,999767

Tabla 69: El método de limpieza óptimo para Punzones

8.3- Análisis para el resto de los puntos (Sin punzones)

A priori parece que ninguno de los factores tenga un efecto estadísticamente significativo sobre los resultados de la cantidad de residuos, ya que ninguno supera el límite marcado por la línea vertical (gráfico 11). Y de los factores estudiados, sólo la combinación de la temperatura y la acción mecánica se acerca a la línea con un efecto negativo. Para asegurar la significación de los efectos se analizan los resultados del análisis de la varianza que proporciona el programa estadístico (tabla 70).

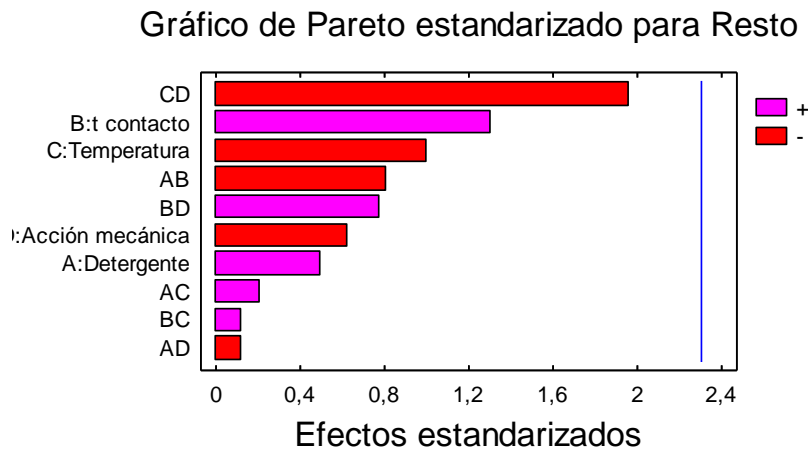


Gráfico 11: Diagrama de Pareto respecto a los residuos (Resto).

Análisis de la Varianza para Resto

Fuente	Suma de Cuadrados	Gl	Cuadrado medio	F-Ratio	P-Valor
A:Detergente	0,0378735	1	0,0378735	0,25	0,6327
B:t contacto	0,25997	1	0,25997	1,69	0,2293
C:Temperatura	0,15413	1	0,15413	1,00	0,3456
D:Acción mecánica	0,0604756	1	0,0604756	0,39	0,5477
AB	0,0995515	1	0,0995515	0,65	0,4439
AC	0,00640008	1	0,00640008	0,04	0,8433
AD	0,00211338	1	0,00211338	0,01	0,9095
BC	0,0022229	1	0,0022229	0,01	0,9072
BD	0,0926528	1	0,0926528	0,60	0,4595
CD	0,591109	1	0,591109	3,85	0,0853
Error Total	1,22772	8	0,153465		
Total (corr.)	2,6679	18			

R-cuadrado = 53,9817 por ciento
R-cuadrado (ajustado para g.l.) = 0,0 por ciento
Error Estándar de Est. = 0,391747
Error absoluto de la media = 0,216252
Estadístico Durbin-Watson = 1,90643 (P=0,4274)
Autocorrelación residual Lag 1 = -0,113643

Tabla 70: ANOVA de los resultados de residuos (Resto)

Análisis de la Varianza(tabla 70), nos demuestra que en este caso, ningún factor tiene el p-valor inferior a 0,05, indicando que son significativamente diferentes de cero al 95,0% de nivel de confianza.

El estadístico R^2 indica que el modelo así ajustado explica el 53,9817% de la variabilidad en Resto. El estadístico R^2 ajustado, el cual es más adecuado para la comparación de números diferentes de variables independientes, es 0,0%. El error estándar de la estimación muestra la desviación normal de los residuos para ser 0,391747. El error absoluto de la media (MAE) de 0,216252 es el promedio del valor de los residuos. El estadístico Durbin-Watson (DW) examina los residuos para determinar si hay cualquier correlación significativa basada en el orden en el que se suceden en el fichero de datos. Puesto que el p-valor es superior a 0.05, no hay indicios de correlación de serie en los residuos.

8.3.1- Interpretación de los efectos principales sobre el resto de los puntos

A partir de la representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre la cantidad de los residuos en el resto del equipo, se puede comprobar que todos los efectos influyen de manera importante ya que tienen pendientes muy marcadas. Por ejemplo para los dos primeros factores la pendiente es positiva, es decir, se obtiene más residuos si el factor pasa a su nivel alto. Mientras que para los dos últimos la pendiente es negativa, lo que significa que aumentar la temperatura y la acción mecánica elimina los residuos, lo cual resulta lógico ya que las altas temperaturas y el tiempo de frotado elimina los residuos mientras que la alta concentración y el largo tiempo de contacto del detergente afectan negativamente a su eliminación.

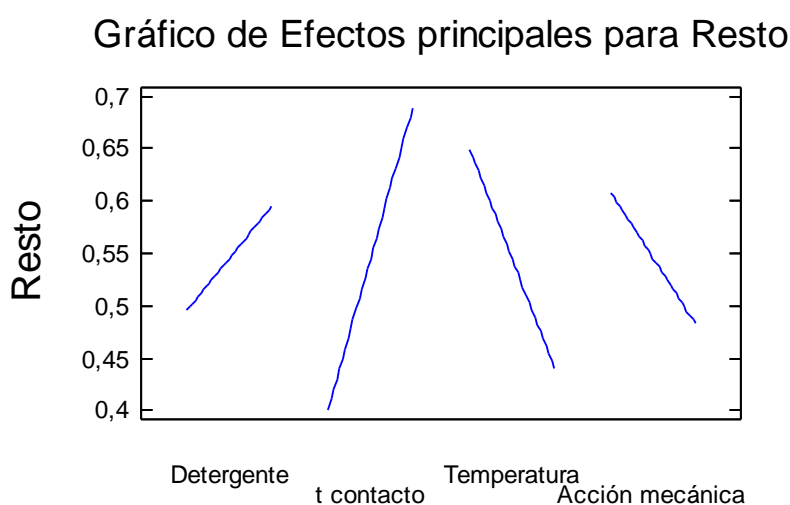


Gráfico 12: Representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 de los efectos principales sobre los residuos (Resto)

8.3.2- Interpretación de los efectos de las interacciones sobre el resto de los puntos

Para analizar las interacciones, el Statgraphics Plus 5.0 proporciona otro gráfico (gráfico 13) en que se dibujan las líneas correspondientes al valor de los residuos en el nivel en que se encuentren los factores. Como se ha mencionado antes, si las líneas (-) y (+) no se cruzan entre sí, implica que no existe interacción estadísticamente significativa entre ambos factores; en este caso sí aparece interacción entre los factores BD (tiempo de contacto; acción mecánica) y CD (temperatura; acción mecánica).

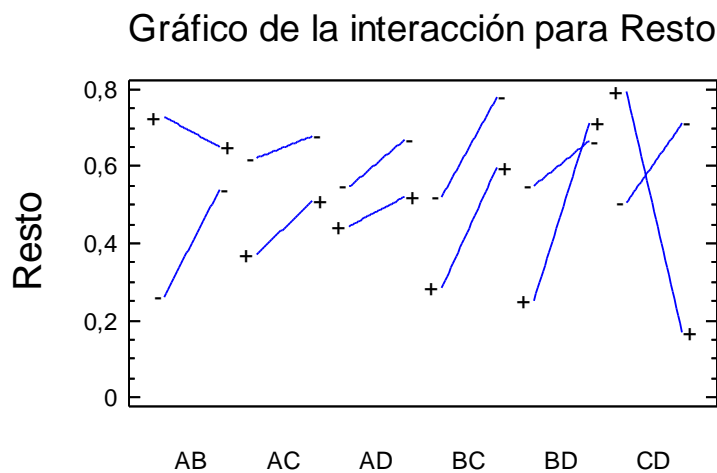


Gráfico 13: Gráfico proporcionado por Statgraphics Plus 5.0 para las seis interacciones: AB, AC, AD, BC BD, CD. (Resto)

En los gráficos de superficie de respuesta y de contornos de superficie de la respuesta estimada (gráficos 14 y 15) donde se relacionan dos variables a la vez la concentración del detergente y el tiempo de contacto, se observa que los residuos aumentan al aumentar la concentración del detergente y el tiempo de contacto, mientras que disminuyen al disminuir la concentración del detergente y el tiempo de contacto, esto significa que el equipo se tiene que limpiar inmediatamente usando una baja concentración del detergente.

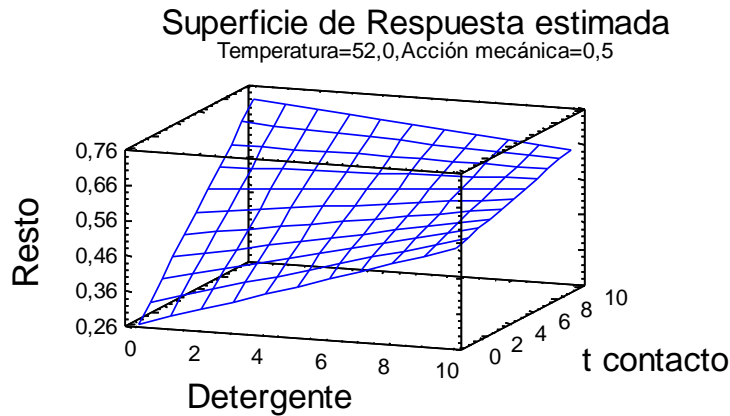


Gráfico 14: Gráfico de superficie de respuesta para los residuos (Resto)

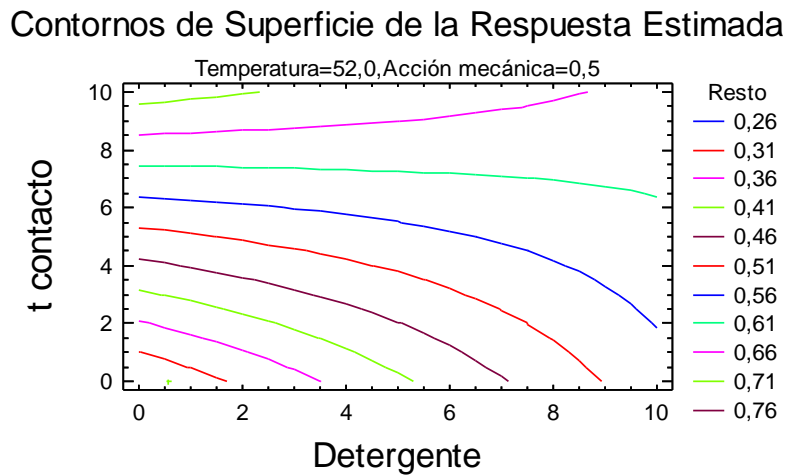


Gráfico 15: Gráfico de contornos de superficie de respuesta estimada para los residuos (Resto)

Con el fin de optimizar el método de limpieza, el programa de Statgrafics, proporciona dos métodos óptimos según el valor óptimo deseado $-0,20348$ o 0 (ver tabla 71 y 72) y para las dos, la combinación de factores que minimiza más los residuos en el resto del equipo es usando temperaturas altas $69,9^{\circ}\text{C}$; acción mecánica de 1 minuto y tiempo de contacto de 0 minutos. Se nota solo una diferencia relacionada con la concentración del detergente.

Respuesta Optimizada

Meta: minimizar Resto

Valor Optimo = -0,20348

Factor	Inferior	Mayor	Optimo
Detergente	0,0	10,0	0,557753
t contacto	0,0	10,0	3,23484E-8
Temperatura	34,0	70,0	69,9836
Acción mecánica	0,0	1,0	1,0

Tabla 71: El método de limpieza óptimo (mínimo posible) para Resto

Analizar Experimento - Resto

Respuesta Optimizada

Meta: mantener Resto en 0,0

Valor Optimo = 0,0

Factor	Inferior	Mayor	Optimo
Detergente	0,0	10,0	7,20931
t contacto	0,0	10,0	0,102058
Temperatura	34,0	70,0	69,9907
Acción mecánica	0,0	1,0	0,997035

Tabla 72: El método de limpieza óptimo (cero) para Resto

En la siguiente tabla 73 se resumen los parámetros que afectan positivamente y negativamente a la cantidad de residuo.

Disminuyen la cantidad de residuo	Aumentan la cantidad de residuo
- Temperatura	- Tiempo de contacto
- Temperatura x Tiempo de contacto	- Detergente x Acción Mecánica
- Temperatura x Acción mecánica	- Detergente x Temperatura

Tabla 73: Parámetros que afectan a la cantidad de los residuos

Finalmente en el estudio de optimización se realizaron dos ensayos estadísticos en los que se buscaron los valores concretos de cada parámetro analizado por tal que la cantidad de residuos fuese 0 y la menor posible. Los resultados fueron los siguientes (ver tabla 74).

	Punzones		Resto		Media	
	Minimizar (-7,65309)	Mantener en 0	Minimizar (-0,20348)	Mantener en 0	Minimizar (-4,94162)	Mantener en 0
A: Detergente	1,40E-09	*	0,557753	7,20931	0,0506608	4,76113
B: t contacto	10	*	3,23E-08	0,102058	10	0,418679
C: Temperatura	69,9956	*	69,9836	69,9907	69,9516	66,1735
D: Acción mecánica	0,999767	*	1	0,997035	1	0,706136

*En este caso no se forzó al programa a ajustar a cero por error

Tabla 74: Optimización del método de limpieza

Se puede observar que la combinación óptima para mantener a cero los residuos finales son una cantidad baja de detergente, un tiempo de contacto corto, una temperatura alta y una acción mecánica alta. Por lo tanto el método optimizado sería el siguiente:

Detergente: 5%

Tiempo de contacto: 0 segundos

Temperatura: 70,0°C

Acción mecánica: 1 min

8.4- Comprobación de la validez del método optimizado

Para comprobar la validez del método optimizado se ha vuelto a realizar el proceso de limpieza utilizando las mismas condiciones (equipo, puntos de muestreo etc...) pero esta vez utilizando el método optimizado.

Según los resultados obtenidos en la tabla 75 se ve claramente que la concentración de los residuos está cercano a cero para los diferentes puntos de muestreo lo que comprueba que el método propuesto ha sido optimizado.

	PC1	PC2	PC3	PC4	PC5	PC6	PC7	PC8
#1	0,058	0,224	0,105	0,033	0,387	0,460	0,096	0,061
#2	0,051	0,203	0,059	0,051	0,395	0,457	0,081	0,074
# 3	0,052	0,225	0,065	0,038	0,405	0,766	0,079	0,065
Media en µg/cm ²	0,054	0,217	0,076	0,041	0,396	0,561	0,085	0,067

Tabla 75: Resultados obtenidos con el método de limpieza optimizado en el mismo equipo

9-Tiempo de permanencia

Como se trata de una planta piloto, el uso de todos los equipos es multiproducto por eso el tiempo de espera máximo establecido para limpiar cualquier equipo es de 1 día. En el trabajo se estudia el periodo máximo equipo sucio *dirty hold time* dejando el equipo sucio hasta 4 días, limpiándolo y analizando los residuos transcurrido el tiempo. Se utilizan dos procedimientos extremos de limpieza:

Procedimiento 1:

Sin detergente, sin frotar y con una temperatura normal del agua de grifo.

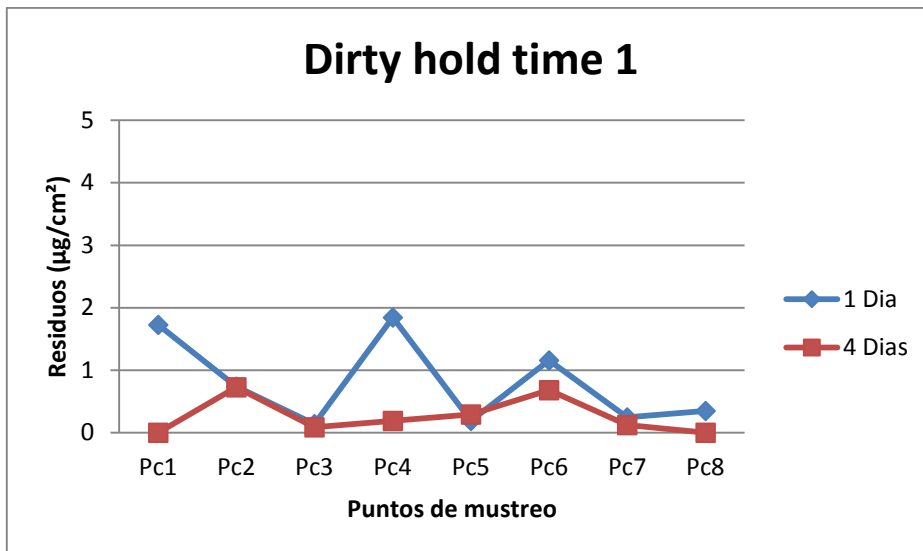
Procedimiento 2:

10% de detergente, tiempo de contacto 10 min, temperatura 70°C y frotando durante un minuto.

Los resultados obtenidos se muestran en la gráfica 16 y la tabla 76 para el procedimiento 1, la gráfica 17 y la tabla 77 para el procedimiento 2.

Punto muestreo	Residuos 1 día ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Residuos 4 días ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	% Incremento
1	1,729	0	-1,729
2	0,740	0,727	-0,013
3	0,140	0,087	-0,053
4	1,844	0,193	-1,651
5	0,192	0,295	0,103
6	1,162	0,684	-0,478
7	0,248	0,126	-0,122
8	0,350	0	-3,50
Media	0,801	0,264	-0,537

Tabla 76: Resultados dirty hold time 1



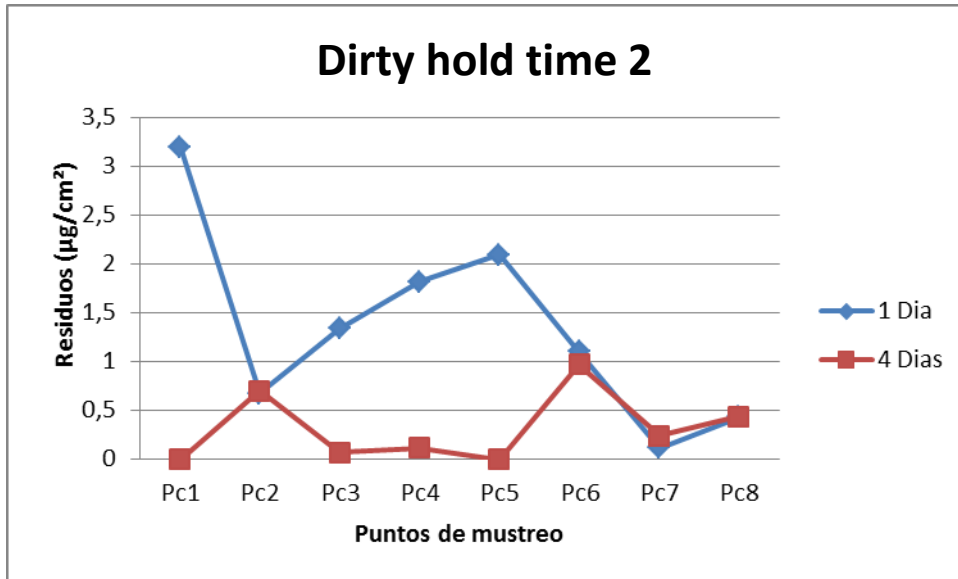
Gráfica 16: Utilizando el procedimiento 1 (sin detergente, T 34°C y sin frotar)

Para el dirtyhold time con el procedimiento de limpieza 1, vemos que los residuos son siempre mayores para el día 1 que para el día 4, lo cual no resulta lógico, lo que hace pensar que quizás se cometió algún error en el muestreo o en el análisis. El residuo medio está en $0,801 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ para un día y en $0,264 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ para cuatro días y la diferencia media entre 1 y 4 días da un porcentaje del $-0,537 \%$.

Para el dirty hold time 2 (procedimiento con detergente) los resultados se muestran en la tabla 77.

Punto muestreo	Residuos 1 día ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Residuos 4 días ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	% Incremento
1	3,205	0	-3,205
2	0,676	0,704	0,028
3	1,338	0,074	-1,264
4	1,818	0,117	-1,701
5	2,095	0	-2,095
6	1,107	0,97	-0,137
7	0,115	0,243	0,128
8	0,434	0,438	0,004
Media	1,348	0,818	-0,53

Tabla 77: Resultados del dirty hold time 2



Gráfica 17: Utilizando el procedimiento 2 (10% de detergente, tiempo de contacto 10 min, T 70°C y frotando durante un minuto)

Los valores salen muy similares alrededor de los 2 µg/cm² (al igual que para la prueba previa) excepto para los puntos PC1 y PC5. Estos puntos corresponden a los punzones de arriba y a la parte entre matrices (ver figura 30), en un inicio se sospechó de contaminación, pero se revisaron los documentos del lote para detectar el error e incidencia, y no se detectó nada anormal. (Ver tabla 78)

Tanto para el procedimiento 1 como el 2, los resultados de 4 días son menores al de 1 día, lo cual resulta ilógico ya que al dejar el equipo sucio más tiempo, los residuos en principio se vuelven difíciles para eliminar. Se pensó que fuera debido a que el API se hubiese degradado. Posteriormente, para comprobar estos resultados se llevó a cabo el ensayo de la limpieza con el método optimizado:

- 5% detergente
- Sin tiempo de contacto
- Temperatura 70°C
- Frotado 1 minuto

Al analizar la situación se comprobó que esta variación en los resultados se podría justificar en parte por la variación en la toma de la muestra ya que en este estudio se realizó el muestreo con un solo swab, mientras que el método finalmente estandarizado sería con 2 swabs, y ya se ha citado que la recuperación es más exacta y fiable al utilizar dos swabs.

Punto muestreo	Residuos 1 día ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	Residuos 4 días ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$)	% Incremento
1	5,182	4,001	-1,181
5	3,972	4,817	0,845
Media	4,577	4,409	-0,168

Tabla 78: Resultados de la repetición del dirty hold time 2, Pc1 y Pc5

Según los resultados obtenidos esta vez con el método definitivo y optimizado puede observarse que el incremento que se produce al dejar los residuos 4 días no es determinante con lo cual podría establecerse como un intervalo de seguridad mantener la especificación de un día pero conociendo que si se alargara no habría problemas con el método validado para retirar todos los resultados remanentes tras el periodo de inactividad.

10- Análisis microbiológico

El control de la contaminación microbiana se hace a partir de la determinación de la carga biológica que haya en la superficie del equipo. Se elige la zona de muestreo que representa el peor caso (con posible presencia de microorganismos). Se hace el muestreo una vez finalizado el procedimiento de limpieza ($t = 0$), y cuatro días después, manteniendo el equipo protegido y en desuso ($t = 4$).

Se considera que el resultado del análisis microbiológico es positivo cuando alguno de los parámetros estudiados supera los límites establecidos.

Los resultados obtenidos fueron ausencia de microorganismos crecidos en el agar, para las superficies analizadas, tanto a $t = 0$ como a $t = 4$, excepto el punto de muestreo 4 de la rampa a tiempo 4 días tras la limpieza que nos da los siguientes resultados (tabla 79).

Para recuento de microorganismos aerobios mesófilos totales = 17 ufc / laminocultivo (13 ufc en una cara y 4 en la otra) y para el recuento de hongos = 0 ufc / laminocultivo. Teniendo en cuenta que se trata de una rampa expuesta al ambiente de la sala que es de clase D, y teniendo en cuenta que el muestreo se hizo cuatro días tras la limpieza, la contaminación detectada estaría dentro de lo esperado.

En general, para los diferentes puntos de muestreo, se cumplen los criterios especificados, pues los resultados del recuento de microorganismos en las muestras analizadas son menores a los valores establecidos.

Punto muestreo	Método muestreo			
	AGAR TPC (MICRO TOTAL)	AGAR MALTA (Hongos)	TSA	SABORAUD
1			0	0
2			0	0
3	0	0		
4	17 ufc / laminocultivo	0		
5	0	0		
6	0	0		
7	0	0		
8	0	0	0	0

(0) Ausencia de microorganismos No aplica el ensayo

Tabla 79: Resultados del análisis microbiológico cuatro días tras la limpieza.

Cabe señalar que las condiciones ambientales de las salas de fabricación en la planta piloto, lugar del estudio, son controladas y por lo tanto la temperatura y la humedad que son factores que proporcionan un medio adecuado para el desarrollo de los microorganismos, están bien controlados y su valor es estable entre $22\pm 2^{\circ}\text{C}$ y HR% 50-70% por lo cual los resultados del análisis microbiológico efectuado en los diferentes puntos de muestreo son coherentes y estarían dentro de lo esperado.

11- PNT de validación limpieza

El sistema de gestión de validación de la limpieza en el SDM propuesto implica el procedimiento siguiente (ver anexo):

- Cuando entra un nuevo equipo, se introduce a la lista de equipos, se calcula la superficie que entra en contacto con el producto a fabricar. Se hace un análisis de riesgo, estudiando el material de composición, los puntos muertos, el desmontaje, la frecuencia de uso y se calcula el índice RRF.
- Cuando entra un nuevo API, se vuelven a evaluar los APIs por lo cual se buscan sus datos de toxicidad (LD_{50} , NOEL...), dosis terapéutica mínima y posología máxima diaria y se calcula el límite de aceptación según los diferentes métodos: Límite relacionado con la dosis, límite relacionado con la salud, límite relacionado con la

adulteración, límite relacionado con el criterio organoléptico y límite según el umbral de preocupación toxicológica.

Si el límite calculado es mayor al límite establecido hasta el momento, esto significa que el API nuevo no representa un nuevo peor caso. Si no es el caso (el límite calculado es menor al límite establecido) se vuelve a validar el proceso de limpieza introduciendo el nuevo límite (Ver figura 62).

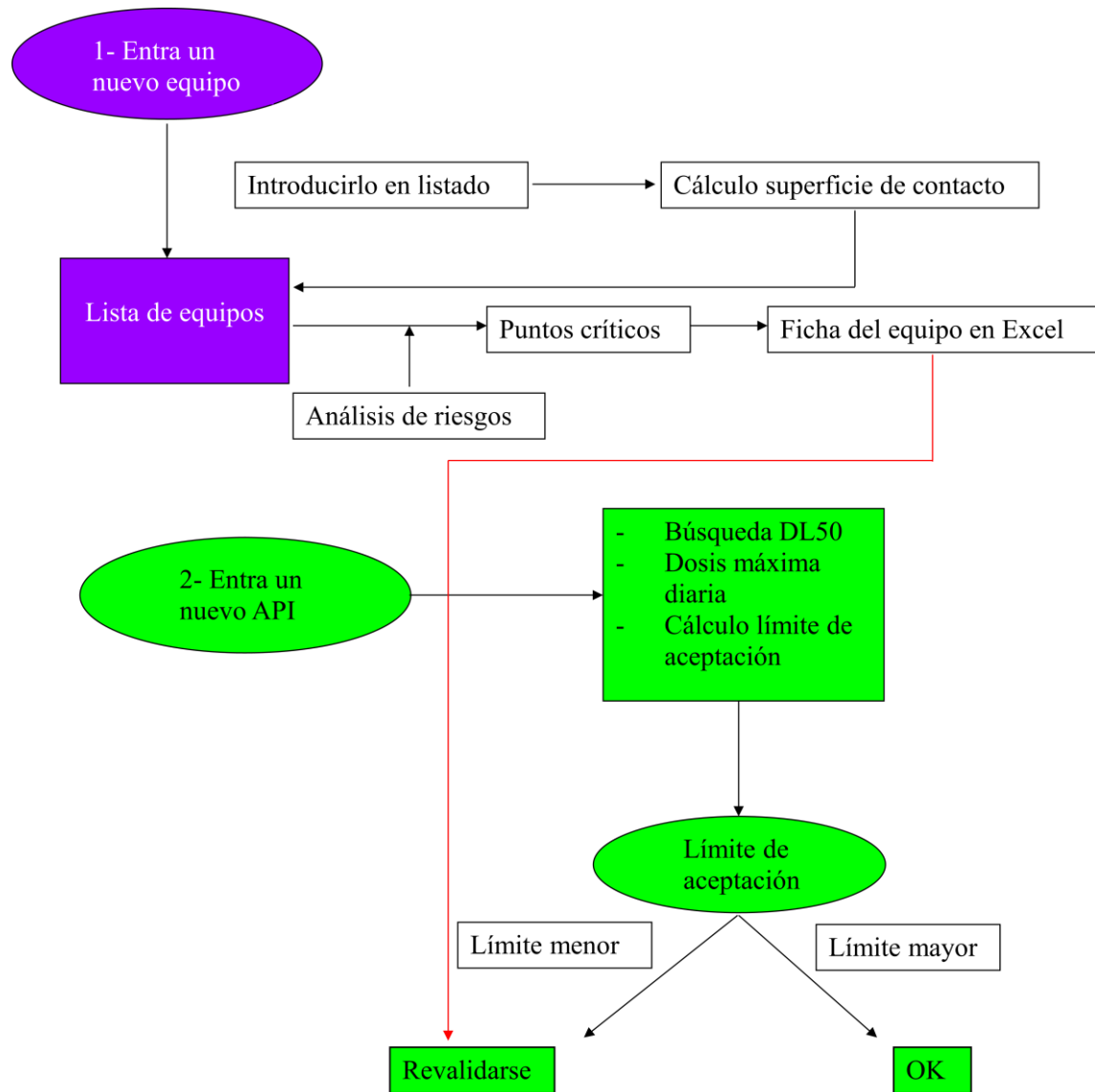


Figura 62: Procedimiento seguido en el SDM cuando entra un nuevo equipo o un nuevo API.

DISCUSIÓN

El trabajo se ha basado en un primer análisis retrospectivo de los equipos y APIs utilizados en el SDM para facilitar la aplicación posterior de la metodología del RRF (para clasificar y comparar los riesgos) y FMEA (para priorizar los riesgos y controlar la eficacia del control de riesgo), siendo estas herramientas unas de las más utilizadas en el área del análisis de riesgos y la validación (ICH Q9, 2005).

Se utilizó la quetiapina fumarato como principio activo trazador para llevar a cabo la validación de la limpieza ya que era el API con el que se trabajaba en aquel momento aunque aplicando el límite de aceptación más crítico. Se ha desarrollado un método adecuado para la cuantificación de dicho principio activo que ha sido validado siguiendo las directrices de la ICHQ2(R1). Se ha utilizado una concentración de trabajo final de 4µg quetiapina/mL a partir de la cual se ha llevado a cabo la validación del método analítico.

Se ha realizado un estudio de recuperación para evaluar el procedimiento de muestreo al igual que en el trabajo de Todorovicy Mirzaa(Todorovic, 2009; Mirzaa, 1999). El estudio se ha hecho sobre dos tipos de material: acero inoxidable y plástico y utilizando como técnica de muestreo swab de la marca Texwipe Alpha igual que la utilizada por (Hofer y Pack 2010). El estudio demuestra que tanto para las placas de acero inoxidable como para las de plástico el factor de recuperación obtenido está por encima del 85 % y con un coeficiente de variación menor del 6%, lo cual cumple con las recomendaciones de la FDA (Shifflet y Shapiro, 2002). Sabiendo que el factor de recuperación se aplica para corregir los valores encontrados al analizar las muestras, se tendrá en cuenta para cada tipo de material el factor de recuperación que se tiene que aplicar a la hora de analizar las muestras tomadas directamente de los equipos: un 93% para el acero inoxidable y un 98,71% para el plástico.

Se ha optimizado el método de limpieza estudiando varias combinaciones de los cuatro factores principales para la eliminación de los residuos en las superficies, que son: la temperatura del agua de aclarado, la concentración del detergente, tiempo de contacto del detergente sobre la superficie del equipo y la acción mecánica o el frotado. Para ello se hizo un Diseño de Experimentos (DOE) como Rathore (Rathore, 2009) planteando una serie de experimentos que implicaron cambiar a propósito una o más entradas (inputs o factores) y medir el efecto resultante en una o más salidas (outputs, en este caso serán los residuos que quedan en la máquina). Es una herramienta que se puede usar para obtener un buen conocimiento de los parámetros críticos de control de un proceso.

Se hizo un diseño factorial fraccional de los cuatro factores y se obtuvieron resultados por triplicado de las diferentes combinaciones estudiando 8 puntos de muestreo. Se calcularon los residuos medios de los tres ensayos llevados a cabo para cada punto de muestreo y combinación y con estos datos se utilizó el programa Statgraphics Plus 5.0 para confeccionar matrices de diseño de experimentos de una manera guiada, y se analizó estadísticamente para determinar los factores principales y el espacio de diseño. Para este análisis estadístico se han agrupado los resultados en tres grupos: residuos medios, residuos en punzones (al ser la parte más crítica y contaminable: pc1) y residuos en el resto del equipo (sin punzones). Para el análisis correspondiente a los residuos medios, el diagrama de Pareto y el análisis de los resultados del análisis de la variancia que proporciona el programa Statgraphics Plus 5.0 indican que tan solo la temperatura tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los resultados de residuos medios, mientras que la concentración del detergente y la acción mecánica no tienen un efecto muy importante. Por tanto, analizando los factores individualmente se ve que para tener en mínimo residuo interesará trabajar con detergente en % bajo, tiempo contacto mínimo, con acción mecánica y temperatura alta. Se ha comprobado si los diferentes factores interactúan entre ellos analizando la gráfica de interacción proporcionada por Statgraphics Plus 5.0. De esta gráfica se deduce que la menor cantidad de residuos se encuentra cuando menor concentración de detergente se usa y a menor tiempo de contacto, es decir cuando se limpia inmediatamente. Es evidente que cuando el tiempo de contacto aumenta el nivel de residuos aumenta. No obstante aunque aumente el detergente el residuo no aumenta tanto, con lo cual la influencia del % de detergente no es tan importante para establecer las condiciones finales.

Respecto al estudio de los residuos en los punzones, igual que para los residuos medios, según el diagrama de Pareto y el análisis de varianza, el factor temperatura tiene un efecto estadísticamente significativo sobre los residuos en los punzones. El gráfico para analizar los efectos principales sobre los punzones, se observa que la concentración de detergente no es un factor significativo, mientras que a mayor temperatura y mayor tiempo de frotado, menor cantidad en residuos en los punzones. El programa Statgraphics Plus 5.0 ha permitido demostrar para los residuos de los punzones que existe interacción estadísticamente significativa entre los factores, por otro lado, puede observarse en los gráficos de superficie de respuesta y de contornos de superficie de la respuesta estimada que la cantidad en residuos aumenta al aumentar la concentración del detergente y el tiempo de contacto.

En tercer lugar, para el estudio correspondiente a los residuos en el resto del equipo (sin punzones), se observa a partir de la representación gráfica proporcionada por Statgraphics Plus 5.0 que todos los efectos influyen de manera importante, de modo que aumentar la temperatura y la acción mecánica elimina los residuos, mientras que la alta concentración y el largo tiempo de contacto del detergente afectan negativamente a su eliminación. Este mismo programa ha permitido demostrar que existen interacciones entre los factores tiempo de contacto, acción mecánica y los factores temperatura-acción mecánica. Los correspondientes gráficos de superficie de respuesta y de contornos de superficie de la respuesta estimada observan que los residuos aumentan al aumentar la concentración del detergente y el tiempo de contacto, cosa que implica que el equipo se tiene que limpiar inmediatamente usando una baja concentración del detergente.

Finalmente en el estudio de optimización se realizaron dos ensayos estadísticos en los que se buscaron los valores concretos de cada parámetro analizado por tal que la cantidad de residuos fuese 0 y la menor posible. Podemos observar que la combinación óptima para mantener a cero los residuos finales son una cantidad baja de detergente, un tiempo de contacto corto, una temperatura alta y una acción mecánica alta. Por lo tanto el método optimizado sería el siguiente:

Detergente: 5%

Tiempo de contacto: 0 segundos

Temperatura: 70,0°C

Acción mecánica: 1 min

Se ha comprobado la validez del método de limpieza optimizado y para ello se ha vuelto a realizar el proceso de limpieza utilizando las mismas condiciones (equipo, puntos de muestreo etc...) pero esta vez utilizando el método optimizado. Los resultados indican que la concentración de los residuos está por debajo del límite para los diferentes puntos de muestreo, lo que demuestra que el método propuesto ha sido optimizado.

En el trabajo se estudió el tiempo de permanencia sucio dejando el equipo sucio 1 día y 4 días. Se utilizaron dos procedimientos extremos de limpieza, uno muy exhaustivo y el otro no. Para ambos procedimientos de limpieza, los resultados a los 4 días han sido menores a los de 1 día, lo cual resulta ilógico ya que al dejar el equipo sucio más tiempo, los residuos se vuelven difíciles para eliminar.

Finalmente, se llevó a cabo un análisis microbiológico en 8 puntos de muestreo. El estudio se llevó a cabo en dos etapas, la primera, tras la limpieza del equipo y la segunda, 4 días después, manteniendo el equipo protegido y en desuso. Los resultados obtenidos fueron

ausencia de microorganismos crecidos para las superficies analizadas, en ambas etapas del análisis, excepto en el punto de muestreo correspondiente a la rampa después de 4 días tras la limpieza, para el cual se han obtenido 17 ufc / laminocultivo para los microorganismos aerobios mesófilos totales. Teniendo en cuenta que se trata de una rampa expuesta al ambiente de la sala que es de clase D, y teniendo en cuenta que el muestreo se hizo cuatro días tras la limpieza, la contaminación detectada estaría dentro de lo esperado. En general, para los diferentes puntos de muestreo, se acatan los criterios especificados en las NCF, pues los resultados del recuento de microorganismos en las muestras analizadas son menores a los valores establecidos.

CONCLUSIONES

1- Se ha desarrollado y establecido una metodología efectiva, económica y extrapolable como sistema de gestión para la validación de la limpieza de una planta piloto, aplicando herramientas de análisis de riesgo según ICH Q9.

2- Se establece un espacio de diseño “universal” para la limpieza de los equipos de la planta piloto del SDM, basado en ICH Q8.

3- Se recomienda no dejar los residuos de fabricación en los equipos de la planta piloto por más de cuatro días, espacio de tiempo límite para obtener niveles de residuos contaminantes inferiores a $1,5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ y, por tanto, aceptables.

4- La combinación óptima de las condiciones de limpieza de los equipos para mantener a cero los residuos finales es la siguiente:

- Detergente: 5%
- Tiempo de contacto: 0 segundos
- Temperatura: $70,0^{\circ}\text{C}$
- Acción mecánica: 1 min

Los resultados obtenidos demuestran que en todos los puntos de muestreo estudiados, la concentración de residuos está cercana a cero, tras la limpieza propuesta.

5- Se propone una metodología analítica para el análisis cuantitativo de fumarato de quetiapina por cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), efectiva para su aplicación a la metodología de limpieza establecida.

6- la metodología analítica por HPLC propuesta se ha validado, concluyéndose que es selectiva, lineal, exacta, precisa, reproducible y robusta, demostrándose que la solución patrón de fumarato de quetiapina es estable por un período de 144 horas mantenida a una temperatura controlada de $25 \pm 2^{\circ}\text{C}$ y sin proteger de la luz.

7- El procedimiento de muestreo que se propone en la nueva metodología de limpieza, se demuestra correcta, adecuada y suficiente para el análisis de residuos en los equipos,

pudiendo llegar a determinar concentraciones de residuo 16 veces menores al límite permisible exigido por las normativas.

8- La metodología de limpieza establecida permite asegurar la ausencia de microorganismos en los equipos tras la limpieza efectuada y hasta durante 4 días después, al cabo de los cuales puede existir algún crecimiento microbiano pero siempre dentro de los límites aceptados por las normativas para equipos que se encuentran en salas de fabricación de clase D.

9- La aplicación innovadora del criterio de TTC (umbral de preocupación toxicológica) para el cálculo del límite permisible residual, se demuestra posible, efectiva y adecuada para la validación de métodos de limpieza de equipos de fabricación de medicamentos.

BIBLIOGRAFÍA

- Agalloco PJ, Carleton JF. Validation of pharmaceutical process. Informa Health USA. 3rd Edition . 2007(September). p.1-11
- Anaisreig. Los factores de la limpieza: El círculo de Sinner [en línea]. DISARP, productos limpieza e higiene. 2011(Agosto). [fecha de consulta: 19 marzo 2012]. Disponible en:
<http://blog-disarp.com/los-factores-de-la-limpieza-el-circulo-de-sinner/>
- AOAC Association of official analytical chemists . Peer Verified methods Program. Manual on Policies and Procedures [en línea].Gaithersburg, Maryland, USA. 1998(October). 35 p. [fecha de consulta: 12 julio 2013]. Disponible en:
<http://citeseerx.ist.psu.edu/viewdoc/download;jsessionid=C3D82F9AE00CA520AF2E3F46E67E8D6E?doi=10.1.1.196.7223&rep=rep1&type=pdf>
- Aguirre OL, Pérez Cuadrado JA, Pujol Forn M. Validación de métodos analíticos. Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria AEFI. Barcelona, 2001(Marzo). 332 p.
- Bailly J. Thèse Doctoral. Strategie de validation nettoyage en industrie chimique et pharmaceutique. Université Claude Bernard-Lyon1. Faculté de pharmacie. Institut des sciences pharmaceutiques et biologiques. 2004(Mayo). p.48-55 [fecha de consulta: 12 octubre 2010]. Disponible en:
<http://blogsdm.files.wordpress.com/2009/11/these-validation.pdf>
- Bakeev KA. Process analytical technology: Spectroscopic Tools and implementation Strategies for the Chemical and Pharmaceutical Industries. Blackwell Publishing Ltd, 2005. p.171-186
- Barlow S. Threshold Of Toxicological Concern (TTC): A Tool For Assessing Substances of Unknown Toxicity Present At Low Levels In The Diet [en línea]. ILSI Europe Concise Monograph Series. ILSI, Brussels, Belgium. 2005. [fecha de consulta: 12 julio 2010]. Disponible en:
http://www.ilsi.org/Europe/Publications/C2005Thres_Tox.pdf
- Berry IR, Nash RA. Pharmaceutical Process Validation. 2^a Edición. New York : Marcel Dekker, 2003. p.1-2. ISBN: 0-8247-0838-5.
- BOE nº 103 de 30-IV-1985. Definición del término validación. O.M. de 19-IV-1985.
- Boya M. Validación de la limpieza de equipos: situación actual. Seminario del Instituto de formación continua IL3. Universidad de Barcelona. Barcelona, 2009(6 Octubre).
- Brand D, Li X, Wortley T. Ion trap mobility Spectrometry-reducing downtime in cleaning validation and verification. *GE Sensing*. 2009(June).

- Carlberg DM. Cleanroom microbiology for non-microbiologist. *CRC Press* ISBN 10: 0935184732 . 1995. p. 100-102
- Caro CF. Validación de procesos no estériles (I). *Industria Farmacéutica: Equipos, procesos y tecnología*. ISSN 0213-5574. N°.2, 1996 (Marzo/Abril) p. 59-65.
- CECMED Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. Regulación 5. Principios generales para la validación de los procesos en la industria farmacéutica. 1994. [fecha de consulta: 17 diciembre 2013]. Disponible en:
http://www.cecmecmed.cu/Docs/RegFarm/DRA/BPPF/1992-2002/Reg/Reg_5-94.pdf
- CECMED Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos. Regulación 16. Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Farmacéuticos. 2006. [fecha de consulta: 17 diciembre 2013]. Disponible en:
http://www.cecmecmed.cu/Docs/RegFarm/DRA/BPPF/2003-2008/Reg/Reg_16-06.pdf
- Cgmpblog. Tiempo de permanencia de un equipo en estado limpio [en línea]. 2012 (Febrero). [fecha de consulta: 30 junio 2012]. Disponible en:
<http://blog.cgmpdoc.com/2012/02/tiempo-de-permanencia-de-un-equipo-en-estado-limpio/>
- Chudzik GM. General Guide to Recovery Studies Using Swab Sampling Methods for Cleaning Validation. *Journal of Validation Technology*. 5 (1), 1998. p.77-81.
- Cuben Ingeniería and bioseguridad. Equipos de limpieza CIP, lavado de equipos y cañerías [en línea]. 2012. [fecha de consulta: 13 julio 2013]. Disponible en:
<http://ebookbrowse.net/limpieza-cip-pdf-d707173874>
- Cumplido A. Limpieza de equipos, CIP Clean In Place, métodos de limpieza automáticos. *Farmaespaña Industrial*. 2014 (Noviembre/Diciembre). p. 52-54. [fecha de consulta: 13 julio 2015]. Disponible en:
file:///C:/Users/Dell/Downloads/article-cip-clean-in-place-meacutetodos-de-limpieza-automaacuteticos_-_www.farmaindustry.com.pdf
- Deichman WB, Gerarde HW. Toxicology of drugs and chemicals. 4th Edition. New York: *academic press*, 1969. p.260-262
- Dolan DG. et al. Application Of The Threshold Of Toxicological Concern Concept to Pharmaceutical Manufacturing Operations. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 43(1), 2005 (October). p.1-9.
- Eiceman GA, karpas Z. Ion Mobility Spectrometry. 2nd Edición, Taylor and Francis Group (CRC Press) Boca Raton, FL. 2005. p.20-27
- EMEA European Medicines Agency. Guideline on the Limits of Genotoxic Impurities. [en línea]. EMEA/CHMP/QWP/251344/2006. London. 2006 (June). [fecha de consulta: 18 julio 2012]. Disponible en:

- http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/09/WC500002903.pdf
- EMA European Medicines Agency . Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities [en linea]. EMA/CHMP/ CVMP/ SWP/169430/2012. 2014(November). [fecha de consulta: 11 junio 2013]. Disponible en:
http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2014/11/WC500177735.pdf
 - Farmacopea Europea 5.6. (2.2.12.. Microbiological examination of non-sterile products (Total viable aerobic count)) [en linea]. 2005(January). p. 20612. [fecha de consulta: 11 julio 2014]. Disponible en:
<http://193.218.17.133/ex/downloads/datasheets/pheur/dok2.pdf>
 - Faucher F, Chulia D. Nettoyage en production pharmaceutique : exemple d'une démarche de validation des procedures. Th D Pharm, Limoges, 1995. p.165-166.
 - FDA Food and Drug Administration. Validation of Cleaning Processes (7/93). Guide to inspections validation of cleaning processes [en linea]. (Last updated 25/11/2014). [fecha de consulta: 18 diciembre 2013]. Disponible en:
<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>
 - FDA Food and Drug Administration. Guidance for Industry Manufacturing, Processing, or Holding Active Pharmaceutical Ingredients [en linea]. 1998(March). [fecha de consulta: 14 diciembre 2014]. Disponible en:
<http://www.fda.gov/downloads/drugs/guidancecomplianceregulatoryinformation/guidances/ucm070289.pdf>
 - FDA Food and Drug Administration NEWS. Management report. Creating a Cleaning Validation Master Plan: Strategies for an Effective and Compliant Program [en linea]. 2007. p.1-29. [fecha de consulta: 2 junio 2010]. Disponible en:
<http://fr.scribd.com/doc/18796812/Creating-a-Cleaning-Validation-Master-Plan#scribd>
 - FDA Food and Drug Administration. OPS Process Analytical Technology- (PAT) Initiative [en linea]. 2007(October). [fecha de consulta: 2 junio 2014]. Disponible en:
<http://www.fda.gov/aboutfda/centersoffices/officeofmedicalproductsandtobacco/cder/ucm088828.htm>
 - FDA Food and Drug Administration Guidance Update: Process Validation: General Principles and Practices [en linea]. White Paper. 2011. p.1-9. [fecha de consulta: 2 junio 2012]. Disponible en:
http://www.pharmout.net/downloads/white_paper_fda_process_validation_guidance_final.pdf

- Forsyth RJ, Nostrand VV, Martin GP. Visible-Residue Limit for Cleaning Validation and its Potential Application in a Pharmaceutical Research Facility. *Pharmaceutical Technology*. 2004 (October). p.48-56 [fecha de consulta: 11 julio 2010]. Disponible en: http://images.alfresco.advanstar.com/alfresco_images/pharma/2014/08/22/4ea10bc5-b529-4b07-bb4a-7406e9755a7d/article-167541.pdf
- Forsyth RJ, Nostrand VV. Using Visible Residue Limits for Introducing New Compounds into a Pharmaceutical Research Facility. *Pharmaceutical Technology*. 2005(April). P.134-140. [fecha de consulta: 14 junio 2011]. Disponible en: http://images.alfresco.advanstar.com/alfresco_images/pharma/2014/08/22/9f848556-2f02-40e4-90bc-3399db41f719/article-156882.pdf
- Forsyth RJ, Nostrand VV. Application of Visible-Residue Limit for Cleaning Validation. *Pharmaceutical Technology*. 2005 (October). p.1-5. [fecha de consulta: 1 octubre 2011]. Disponible en: <http://www.pharmtech.com/application-visible-residue-limit-cleaning-validation-richard-j-forsyth-and-vincent-van-nostrand?rel=canonical>
- Forsyth RJ, Leblanc A, Voaden M. A single adulteration limit for cleaning validation in a pharmaceutical pilot-plant environment. *Pharmaceutical Technology*. 31(1), 2007 (January). p.74-83. [fecha de consulta: 24 noviembre 2011]. Disponible en: <http://www.pharmtech.com/single-adulteration-limit-cleaning-validation-pharmaceutical-pilot-plant-environment>
- Forsyth R. J, Julia C. O'Neill, jeffrey L. Hartman. Material of construction based on recovery data for cleaning validation. *Pharmaceutical Technology*. 2007 (October). p.1-5. [fecha de consulta: 11 octubre 2011]. Disponible en: <http://www.pharmtech.com/materials-construction-based-recovery-data-cleaning-validation>
- Forsyth RJ. Establishing and Executing Cleaning Validation in a Risk-Based Environment. AASP Annual Meeting. 2007(November). [fecha de consulta: 11 julio 2010]. Disponible en: https://blogsdm.files.wordpress.com/2009/10/forsyth_visualmente_limpio.pdf
- Forsyth R J. Equipment-Hold Time for Cleaning Validation. *Pharmaceutical Technology*. 32(4),2008 (April).p.1-5. [fecha de consulta: 12 octubre 2010]. Disponible en:<http://www.pharmtech.com/equipment-hold-time-cleaning-validation>
- Forsyth RJ. Equipment-Hold Time for Cleaning Validation: Time to come “Clean” for a “Dirty” little secret?. *Pharma Times*. 40 (6), 2008(June). p.15-18.
- Forsyth R J. Cleaning validation: Factors affecting recovery data and material of construction grouping. *Journal of validation technology*. 15 (4), 2009(Autumn). p.91-96.[fecha de consulta: 12 octubre 2011]. Disponible en:

- http://www.ivtnetwork.com/sites/default/files/Validation_01.pdf
- Forsyth R J. Ruggedness of Visible Residue Limits for Cleaning Validation. *Pharmaceutical Technology*. 33(3), 2009 (March). p.1-5 [fecha de consulta: 15 agosto 2012]. Disponible en:
<http://www.pharmtech.com/ruggedness-visible-residue-limits-cleaning-validation>
 - Fredric Robin. The basic facts of cleaning validation [en línea]. QA-Validation Department. Novopharm Ltd, Canada. 2010(February). [fecha de consulta: 2 mayo 2012]. Disponible en:
<http://pharmaceuticalvalidation.blogspot.com/2010/02/basic-facts-of-cleaning-validation.html>
 - Fugate T. Hold Time Studies: A Lost Parameter for Cleaning Validation. *Journal of Validation Technology*. 13 (3), 2007. p.206–209.
 - García Montoya E. Tesis doctoral: Optimización, validación y modelización de un proceso de fabricación de comprimidos. Desarrollo de una aplicación interactiva multimedia. Universidad de Barcelona. Facultad de Farmacia. Fecha de lectura: 5 de junio de 2001.
 - Gosselin RE, Smith RP, Hodge HC. Clinical toxicology of commercial Products. 5th Edition, Baltimore: Williams & Wilkins. 1984. p. II-214, III-31. III-36.
 - Greb E. Lean Manufacturing Begins with Efficient Material Handling. *Pharmaceutical Technology*. 2008 (April). [fecha de consulta: 3 noviembre 2010]. Disponible en:
<http://www.pharmtech.com/lean-manufacturing-begins-efficient-material-handling>
 - Guía de Normas de Correcta Fabricación. Eudralex volume 4. EU Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Volume 4. Part 1. Basic Requirements for Medicinal Products. August 2013. [fecha de consulta: 28 diciembre 2013]. Disponible en:
http://ec.europa.eu/health/documents/eudralex/vol-4/index_en.htm
 - Guía de Normas de Correcta Fabricación. Eudralex volume 4. EU Guideline for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Part I. Chapter 3: premises and equipment, Chapter 5: Production [en línea]. 2014(August). [fecha de consulta: 12 diciembre 2014]. Disponible en :
http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-4/chapter_3.pdf
http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-4/chapter_5.pdf
 - Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Parte II. Requisitos básicos para sustancias activas usadas como materiales de partida. 13- Control de cambios [en línea]. 2014. [fecha de consulta: 11 diciembre 2014]. Disponible en:

- http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/reqBasicosSustActiv/13_parte-II.pdf
- Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Anexo I: Fabricación de medicamentos estériles [en línea]. 2014. [fecha de consulta: 12 enero 2015]. Disponible en:
http://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/anexos/14_anexo-1.pdf
 - Guía de Normas de Correcta Fabricación. Eudralex volume 4. EU Guideline for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. Annex 15: Qualification and Validation [en línea]. 2015(March). [fecha de consulta: 12 junio 2015]. Disponible en:
http://ec.europa.eu/health/files/eudralex/vol-4/2015-10_annex15.pdf
 - Hall EW. Your Cleaning Program: Is It Ready for the Pre-Approval Inspection, *Journal of Validation Technology*. 4 (4), 1998. p.302-308.
 - Hall EW. Validation and Verification of Cleaning Processes. Hall & Pharmaceutical Associates, Inc., Kure Beach, North Carolina, U.S.A. 2003. p.465-504
 - Hellings M., Vanbaelen H. The application of PAT for cleaning and cleaning validation. *American Pharmaceutical review*. 2008(Jul-aug). p.18-25
 - Heron. Calificaciones de equipos (IQ, OQ y PQ). Servicios para la industria farmacéutica. 2013. [fecha de consulta: 18 enero 2013]. Disponible en:
<http://heron.com.ar/calificaciones-de-equipos-iq-oq-y-pq/>
 - Hofer JD, Pack BW. A Risk-Management Approach to Cleaning-Assay Validation. *Pharmaceutical Technology*. 6(34). 2010(June). [fecha de consulta: 3 febrero 2011]. Disponible en:
<http://www.pharmtech.com/node/220002?id=&pageID=1&sk=&date>
 - Horabuenablogspot. Detergentes. Propiedades. Usos. Tipos [en línea]. 2011. [fecha de consulta: 2 enero 2012]. Disponible en:
<http://horabuena.blogspot.com/2011/07/detergente-propiedades-usos-tipos.html>
 - Hyde JM., Watler PK., Ph.D., Bader K. PAT for Pharmaceutical Cleaning: control and instrumentation techniques for CIP systems consistent with process analytical technologies practices can improve product quality while reducing costs. *Control Engineering*. 54 (4). 2007(April). p.86-91
 - ICHQ2(R1). International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Validation of Analytical Procedures: Text and Terminology [en línea]. November 2005. [fecha de consulta: 18 junio 2010]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q2_R1/Step4/Q2_R1_Guideline.pdf

- ICH Q3A(R2). International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Impurities in New Drug Substances [en línea]. 25 October 2006. [fecha de consulta: 18 noviembre 2010]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3A_R2/Step4/Q3A_R2_Guideline.pdf
- ICH Q3B(R2). International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Impurities in New Drug Products[en línea]. 2 June 2006. [fecha de consulta: 12 noviembre 2010]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3B_R2/Step4/Q3B_R2_Guideline.pdf
- ICH Q3C(R5). International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Impurities: Guidelines for Residual Solvents [en línea]. February 2011. [fecha de consulta: 12 octubre 2012]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q3C/Step4/Q3C_R5_Step4.pdf
- ICH Q7. International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients [en línea]. November 2000. [fecha de consulta: 12 octubre 2011]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q7/Step4/Q7_Guideline.pdf
- ICHQ8 (R2). International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Pharmaceutical development. Part II: Annex [en línea]. August 2009. [fecha de consulta: 12 diciembre 2014]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf
- ICHQ9. International Conference on Harmonisation. Harmonised tripartite guideline. Quality risk management[en línea]. November 2005. [fecha de consulta: 3 junio 2014]. Disponible en:
http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q9/Step4/Q9_Guideline.pdf
- IQS Instituto Químico de Sarrià. Análisis instrumental: cualificación de equipos; validación de métodos de análisis. Curso impartido en el Instituto Químico de Sarrià (IQS). 2000(14-15 febrero).
- ISO 14644-1: 1999. Cleanrooms and associated controlled environments-Part 1: Certification of Air Cleanliness [en línea]. International Organisation for Standardisation (ISO). Switzerland. 1999.[fecha de consulta: 3 junio 2011]. Disponible en:http://www.iso.org/iso/catalogue_detail.htm?csnumber=25052

- IVT Institute of Validation Technology. Cleaning Validation and Critical Cleaning Processes. Conference Proceedings. Dublin, Ireland. 2002(19-20 June).
- Jenkins KM, Vanderwielen AJ. Cleaning Validation: An Overall Perspective. *Pharmaceutical Technology*. 18 (4), 1994. p.60–73.
- Kieffer RG, Nally JD. Why validation?. En: Carleton FJ, Agalloco JP, editores. Validation of aseptic pharmaceutical processes. 2nd Edition. New York: Marcel Dekker; 1999. p.1-16.
- Kim B. Cleaning Process Development and Validation [en línea]. VP of Quality. Tanox, Inc. 2006(june). [fecha de consulta: 18 diciembre 2013]. Disponible en: <http://wenku.baidu.com/view/d1fc1b4aa8956bec0975e30b.html?re=view>
- Kluger D, Pochard, Mrozek, Schlusser, Vogele, Bousser et al. Hygiène en industrie alimentaire. Henkel France SA. 1981, 116 p.
- Kroes R, Kozianowski G. Threshold of toxicological Concern (TTC) in food safety assessment. *Toxicology Letters*. 127(1), 2002 (February). p.6-43.
- Kroes, et al. Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): Guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food Chemical Toxicology*. 42(1), 2004. p.65-83.
- Kroes R, Kleiner J, Renwick A. The Threshold of Toxicological Concern Concept in Risk Assessment. *Toxicological Sciences*. 86 (2), 2005. p.226-230.
- Laban F, Cauwet M, Champault V, Dampfhoffer PR, Delestre E, Detoc S. et al. Validation des procédés de nettoyage. Rapport d'une comission SFSTP. S.T.P. Pharma Pratiques. 1(6), 1996. p.5-40
- Laban F, Cauwet M, Champault V, Dampfhoffer PR, Delestre E, Detoc S. et al. Validation of Cleaning procedures. S.T.P. Pharma Pratiques. 7 (2), 1997. p.87-127.
- Laban F, Bouloumie C, Bousquet-Bedu M, Cavil J, Dumant A, Durand F. et al. Choix et qualification des produits détergents et désinfectants. S.T.P Pharma Pratiques. 9(3), 1999. p. 251-257.
- Lenntech. Cleaning in CIP processes [en línea]. 2014. [fecha de consulta: 28 junio 2014]. Disponible en: <http://www.lenntech.com/cleaning-cip.htm>
- Leblanc DA. Recovery Studies for Different Surfaces for Rinse Sampling [en línea].Cleaning validation technologies. 2013(January). [fecha de consulta: 12 octubre 2013]. Disponible en: <http://cleaningvalidation.com/Cleaning%20Memos/index.aspx>
- Mirza T, Lunn MJ, Keeley FJ, George RC, Bodenmiller JR. Cleaning level acceptance criteria and a high pressure liquid chromatography procedure for the assay of Meclizine Hydrochloride residue in swabs collected from pharmaceutical manufacturing equipment surfaces. *Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 19(5), 1999 (April). p.747-756.

- Mollah AH. Risk analysis and Process validation. *BioProcess International*. 2(9), 2004(October). p.28-36.
- Narinder KM. Development of an In Situ Spectroscopic Method for Cleaning Validation using Mid-IR Fiber-optic. *BioPharm International*. 5(5), 2002(May). P.36. [fecha de consulta: 13 febrero 2011]. Disponible en:
<http://www.biopharminternational.com/biopharm/data/articlestandard//biopharm/252002/22918/article.pdf>
- NYS Department of Labor. Personal decontamination enclosure system [en línea]. 2000. [fecha de consulta: 9 junio 2013]. Disponible en:
<http://www.labor.state.ny.us/workerprotection/safetyhealth/subpart56-9.shtm>
- Osorio SR, Meneses AA, Paniagua JF. Aplicación del concepto de espacio de diseño en el desarrollo de biofármacos. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*. 42(1), 2011(enero-marzo). p.58-64. [fecha de consulta: 12 marzo 2012]. Disponible en:
<http://www.redalyc.org/src/inicio/ArtPdfRed.jsp?iCve=57918590007>
- Penny, Bristol. Time to switch to TOC? (Cleaning Validation) (Total Organic Carbon). *Cleanroom Technology*. 2004(February). p.75-77
- PIC/S PI 006-3. Pharmaceutical Inspection Convention. Recommendations on Validation Master Plan. Installation and Operational Qualification. Non-Sterile Process Validation. Cleaning Validation. 25 September 2007. [fecha de consulta: 12 febrero 2013]. Disponible en:
http://www.picscheme.org/pdf/25_pi-006-3-recommendation-on-validation-master-plan.pdf
- Ph Eur 8th European Pharmacopoeia [en línea]. Edition 2014
- Quiminet. Sistemas de aire para evitar microorganismos en las áreas de producción [en línea]. 2006(Junio). [fecha de consulta: 18 diciembre 2013]. Disponible en:
<http://www.quiminet.com/articulos/sistemas-de-aire-para-evitar-microorganismos-en-las-areas-de-produccion-2573041.htm>
- Rathore AS, Branning R, Cecchini D. Design space for biotech products. *BioPharm International*. 20(4), 2007(April). P.36-40. [fecha de consulta: 23 junio 2010]. Disponible en:
<http://www.biopharminternational.com/quality-design-space-biotech-products>
- Rathore AS, Winkle H. Quality by design for biopharmaceuticals. *Nature Biotechnology*. 27, 2009. p.26-34. [fecha de consulta: 6 febrero 2011]. Disponible en:
<http://www.nature.com/nbt/journal/v27/n1/full/nbt0109-26.html>
- Rathore AS, Greene R. Quality by design for biotechnology products – Part 1. *Biopharm International*. 22(11), 2009(November). p.1-7 [fecha de consulta: 6 febrero 2011]. Disponible en:

- <http://www.biopharminternational.com/biopharm/Quality/Quality-by-Design-for-Biotechnology-ProductsmdashP/ArticleStandard/Article/detail/640113>
- Rezkallah W, García-Montoya E, Pérez-lozano P, Suñé-Negre JM, Miñarro M, Tico JR. GMPs for the 21st century and cleaning validation. *European Journal of Parenteral & Pharmaceutical Sciences*. 16(3), 2011. p.78-83
 - Rivera E. Respuestas a los 5 asuntos más comunes sobre validación de limpieza en los equipos de fabricación farmacéutica. Seminario Steris. Buenos Aires, Argentina. 2013(Septiembre). [fecha de consulta: 26 enero 2014]. Disponible en: http://www.eurolabsa.com.ar/noticias_steris/Seminar_STERIS_%28Argentina_Sep_2013%29%20v.3.pdf
 - Fredric R. The basic facts of cleaning validation [en línea]. Canada: Pharmainfo.net. 2004(November). [fecha de consulta: 21 octubre 2011]. Disponible en: <http://www.pharmainfo.net/reviews/basic-facts-cleaning-validation>
 - Rohe T. Near Infrared (NIR) Spectroscopy for in-line monitoring of polymer extrusion processes. *Talanta*. 50(2), 1999(September). p.283-290.
 - Roman S. Pourquoi valider et comment valider?. *STP PharmaPratiques* 7(5), 1997. p.332-338
 - Salazar R, Pujol M, BoyaM. Libro de Cualificación y validación, elementos básicos de la calidad y productividad industrial. Ramon Salazar Macian. 2007. p. 676-717.
 - Salvo Hipólito DJ. La inspección visual remota como extensión de la inspección visual en superficies confinadas o de acceso limitado [en línea]. 2002. [fecha de consulta: 12 octubre 2011]. Disponible en: www.aendur.ancap.com.uy/boletin/Jor_Tec/Trabajos/Trabajo8.PDF
 - Sani-Matic, Inc. Clean Out Place (COP) Immersion Parts Washers [en línea]. 2012. [fecha de consulta: 17 diciembre 2013]. Disponible en: [http://sanimatic.com/bio-pharm/cop-immersion-parts-washers.aspx#LiveContent\[FBCOP](http://sanimatic.com/bio-pharm/cop-immersion-parts-washers.aspx#LiveContent[FBCOP)
 - Sharnez R, Kelwer L. Parametric Release for Cleaning, Part I: Process Characterization. *Journal of Validation Technology*. 15(3). 2009(Summer).
 - Shifflet MJ, Shapiro M. Development of Analytical Methods to Accurately and Precisely Determine Residual Active Pharmaceutical Ingredients and Cleaning Agents on Pharmaceutical Surfaces. *American Pharmaceutical Review*. (4), 2002(Winter). p.35-39.
 - Schiffmann A. WIP/CIP and closed equipment systems in the field of pharmaceutical solid dosage forms. *Pharma Technologie Journal* N°1080, 2000. p. 206-223.

- Schneider SMOL. Cleaning validation in the pharmaceuticals industry [en línea]. Dipl. Phys. ETHZ, Ferrum Marketing& Sales, Business Unit Centrifuge Technology. 2004(February). [fecha de consulta: 17 diciembre 2010]. Disponible en: <http://www.copybook.com/pharmaceutical/ferrum-supplier-of-centrifuge-technology-solutions-for-solidliquid-separation/articles/cleaning-validation-pharmaceuticals-industry>
- Stamatis DH. Failure Mode and Effect Analysis: FMEA from Theory to Execution. Milwaukee, WI, ASQ Press, 1995. p.45-76
- Todorovic ZB, Lazic ML, Veljkovic VB, Milenovic DM. Validation of an HPLC–UV method for the determination of digoxin residues on the surface of manufacturing equipment. *Journal of the Serbian Chemical Society*. 74(10), 2009. p.1143-1153. [fecha de consulta: 30 diciembre 2011]. Disponible en: http://www.researchgate.net/publication/224042710_Validation_of_an_HPLC-UV_method_for_the_determination_of_digoxin_residues_on_the_surface_of_manufacturing_equipment
- Tazón FA. ICH Q9 Quality Risk Management. Seminario del Instituto de formación continua IL3. Universidad de Barcelona. Barcelona. 2007(Noviembre).
- USP37-NF32 United States Pharmacopeia 37, National Formulary 32. Validation of compendial methods. Chapter 1225, The United States Pharmacopeial Convention, Rockville, Md, USA, 2014.
- White EK, Moallah AH. Risk-Based Cleaning Validation in Biopharmaceutical API Manufacturing. *BioPharm international*. 18(11), 2005(November). [fecha de consulta: 10 junio 2011]. Disponible en: <http://biopharminternational.findpharma.com/biopharm/article/articleDetail.jsp?id=197391&sk=&date=&pageID=3>
- WHO World Health Organization. Annex 2 WHO good manufacturing practices for active pharmaceutical ingredients [en línea]. WHO Technical Report Series, No. 957, 2010. p.130-191[fecha de consulta: 15 junio 2012]. Disponible en: http://apps.who.int/prequal/info_general/documents/TRS957/TRS957_Annex2_GMP-API.pdf
- WHO world Health Organization. QAS/11.415/FINAL. Supplementary information, S.3.7 Microbiological Quality of non-sterile products: Recommended acceptance criteria for pharmaceutical preparations: Final text for revision of The International Pharmacopoeia [en línea]. 2012(April). [fecha de consulta: 18 junio 2013]. Disponible en: http://www.who.int/medicines/publications/pharmacopoeia/2012-04-03MicrobialPurity_QAS11-41_FINAL.pdf

- Yang P, Burson K, Feder D, Macdonald F. Method Development of Swab Sampling for Cleaning Validation of a Residual Active Pharmaceutical Ingredient. *Pharmaceutical Technology*. 2005(January). p.84-94. [fecha de consulta: 5 abril 2013]. Disponible en: http://images.alfresco.advanstar.com/alfresco_images/pharma/2014/08/22/2afae7af-3e78-4de2-87ae-5473ddc56898/article-141844.pdf
- www.fermion.fi[fecha de consulta: 25 junio 2013].
<http://www.fermion.fi/Global/Fermion/Fermionin%20uusi%20verkkosivu/MSDS/Quetiapine.pdf>
- www.osiatis.esOSIATIS the IT services experts. [fecha de consulta: 2 abril 2012].
http://itil.osiatis.es/Curso_ITIL/Gestion_Servicios_TI/gestion_de_cambios/vision_general_gestion_de_cambios/vision_general_gestion_de_cambios.php

ANEXOS

Anexo I: PNT validación de limpieza

Validación de los procedimientos de limpieza de los equipos

1. OBJETIVO

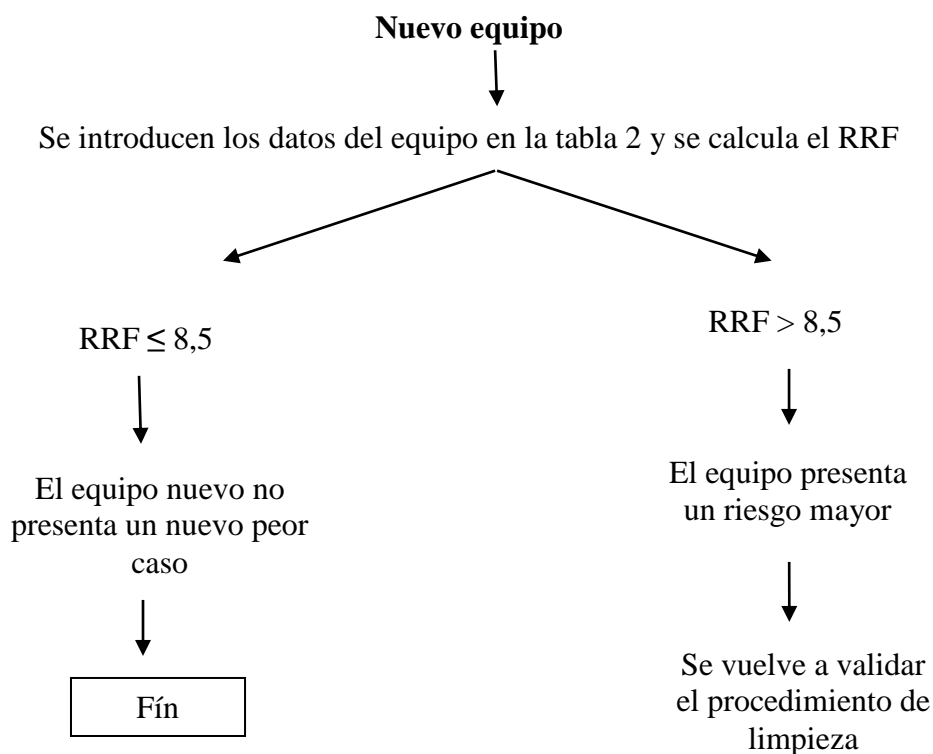
Describir el procedimiento general para organizar la validación de la limpieza de los equipos de fabricación del SDM.

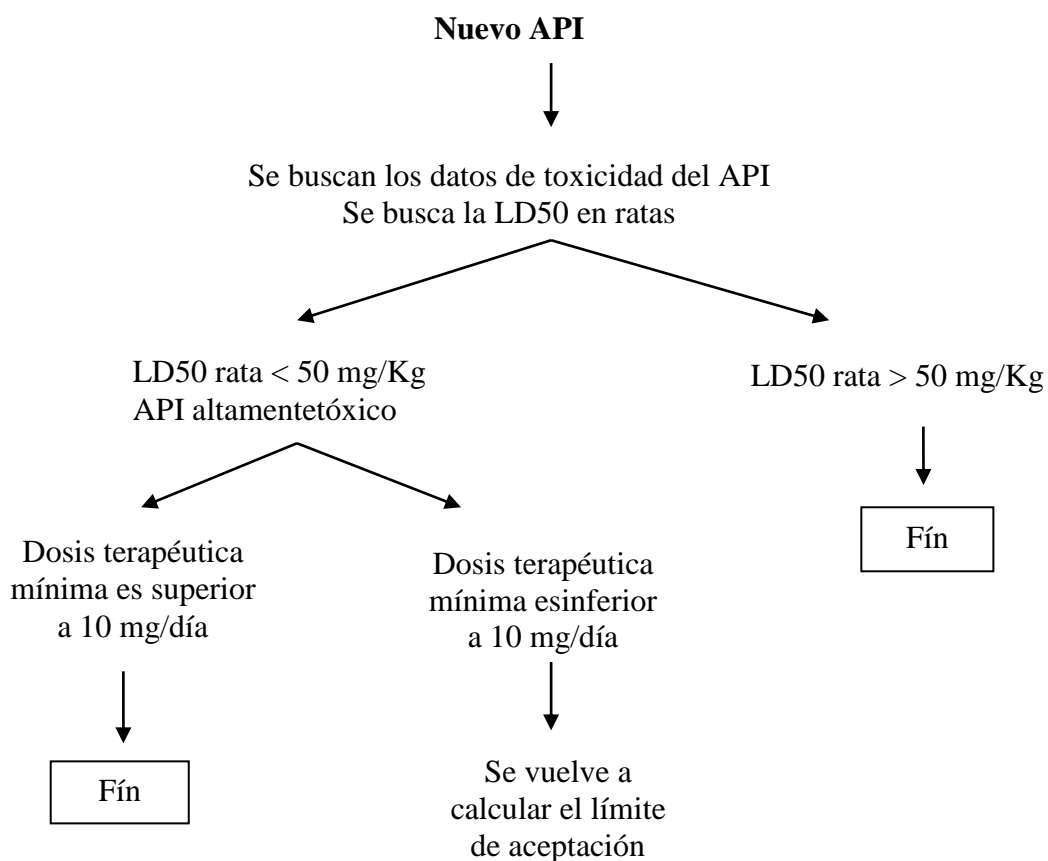
Este método se aplicará como mínimo cuando se utilicen principios activos tóxicos antes de utilizarlos y cuando se utiliza un nuevo equipo por la primera vez.

2. RESPONSABILIDAD

La validación de limpieza es responsabilidad del personal del SDM, con el fin de asegurar que no se produzca contaminación cruzada entre los productos fabricados.

3. PROCEDIMIENTO GENERAL





4. DETERMINACIÓN DE LA TOXICIDAD DEL PRINCIPIO ACTIVO

Se determina el grado de toxicidad del principio activo en base a la clasificación de Deichman y Gerarde. Así, se identifica si el API introducido presenta un peor caso o no.

Grupo	Rangos de toxicidad	Vía oral, dosis única rata LD50*
1	Extremadamente tóxico	<1 mg/Kg
2	Altamente tóxico	1-50 mg/Kg
3	Moderadamente tóxico	50-500 mg/Kg
4	Ligeramente tóxico	0,5-5 g/Kg
5	Prácticamente no tóxico	5-15 g/Kg
6	Relativamente inocuo	>25 g/kg

*LD50: La dosis letal media. Es la dosis única obtenida estadísticamente, de una sustancia de la que puede esperarse que produzca la muerte del 50% de los animales a los que se haya administrado.

Tabla 1: Intervalos de toxicidad según Deichman y Gerarde, 1969.

5. EVALUACIÓN DE RIESGO EQUIPO

Se hace una valoración de la criticidad de los parámetros mencionados en la tabla 2, se aplica la ponderación correspondiente y se calcula el RRF usando la siguiente fórmula:

$$RRF = FD.3 + FU.4 + FL.2 + FPM.2 + FM.2$$

Siendo FD: Factor desmontaje

FU: Factor frecuencia de uso

FL: Factor facilidad de limpieza

FPM: Factor puntos muertos

FM: Factor tipo material

Parámetros	Grado de riesgo	Características	Factor	
Desmontaje	3	Totalmente	0,25	
		Parcialmente	0,50	
		No	0,75	
Frecuencia de uso	4	Casi cada día	1	
		Mucho (1/semana o más)	0,75	
		Regular (1/1-2 meses)	0,50	
		Poco (1-2/año)	0,25	
Facilidad de limpieza	2	Liso	0,25	
		Poroso (grueso)	0,75	
Puntos muertos	2	No	0	
		Sí	Accesibles	0,50
			No accesibles	0,75
Tipo material	2	Acer inoxidable	0,25	
		Acer inoxidable + otromaterial	0,50	
		Otromaterial	0,75	

Tabla 2: Los parámetros del equipo y su factor asignado según riesgo.

6. CÁLCULO DEL LÍMITE DE ACEPTACIÓN

Se hace el cálculo en base acuatro criterios: dosis terapéutica, presencia de trazas, criterio organoléptico y el umbral de preocupación toxicológica TTC y se escoge el límite más estricto que representa la concentración teórica máxima permitida en la validación de los procesos de limpieza.

Criterio	Fórmula de cálculo	
Dosis terapéutica	$Qd = d/D1000 * T/\text{área del equipo}$	d: Dosis terapéutica mínima diaria de producto contaminante A (mg de principio activo/día) T : Tamaño de lote D: Posología máxima diaria del producto posterior
Presencia de trazas	$Qd = 10 \text{ ppm } T/\text{área del equipo}$	Qd: cantidad de contaminante permitido en la sustancia posterior (mg/cm ² o mL) T : Tamaño de lote
Criterio organoléptico	4-20 µg/cm ²	–
TTC "Umbral de preocupación toxicológica"	1 µg por día para los principios activos sospechosos de ser cancerígenos. 10 µg por día para activos que no son cancerígenos pero son potentes o muy tóxicos. 100 µg por día para activos que no son potentes y ni muy tóxicos.	–

Tabla 3: Los diferentes criterios empleados en el cálculo del límite de aceptación

7. MÉTODO ANALÍTICO

7.1. GENERALIDADES

Se validará la limpieza de un equipo tras haberlo servir y limpiar de una manera protocolaria (según el PNT aprobado).

Los métodos empleados para la toma de muestras son:

- Método del swab: Consiste en pasar un swab empapado en un disolvente, en el cual la sustancia patrón sea soluble (ver 4.3), para una superficie determinada del equipo. Para determinar esta superficie se puede servir una plantilla que se encuentra en control galénico. Se tiene que elegir las partes críticas del equipo, es decir, aquellas partes del equipo de más difícil acceso, donde es más fácil encontrar contaminación. Las podemos determinar mediante un análisis de riesgo del equipo, que estará añadido al protocolo de limpieza.
- Método del agua de lavado: Consiste en llenar el equipo con un volumen adecuado de agua desionizada o del disolvente y ponerlo en marcha durante el tiempo estándar para elaborar un lote.

7.2. SELECCIÓN DE LA SUSTANCIA INDICADORA DE LA LIMPIEZA

1. Buscar en la bibliografía las características físico-químicas de la sustancia tales como la solubilidad en agua y en otros disolventes, máximo de absorbencia, etc. Los libros preferidos son el Manual Merck, cualquiera Farmacopea (Real Farmacopea Española, Ph. Eur., USP,...) o artículos adecuados.
2. Determinar los límites aceptables de concentración remanente de la sustancia en el aparato ver el apartado 6.

7.3 ENSAYO DE SOLUBILIDAD

Si no se encuentra bibliografía sobre la solubilidad se aplica al PNT SDM ref: lab01203

7.4 CONSTRUCCIÓN DE LA RECTA DE CALIBRACIÓN

Se construye una recta patrón de absorbencia frente a concentración de la sustancia en el disolvente elegido para la limpieza.

Se preparan dos diluciones de diferentes concentraciones. Se debe procurar que haya suficientes diluciones a bajas concentraciones porque es la zona crítica. Es aconsejable que la concentración máxima sea el doble de la concentración máxima permitida.

Para preparar estas diluciones partiremos de una solución madre, y posteriormente leeremos las absorbencias en el espectrofotómetro.

Tomad todos los datos de las absorbencias obtenidas por regresión lineal, calcular la recta patrón ($y = A + Bx$), donde y es la absorbencia y x es la concentración.

7.5 TOMA DE MUESTRA PARA ANALIZAR

7.5.1 MÉTODO DEL SWAB

1. Introducir 10 mL-para que el APi sea detectable y cuantificable- del disolvente escogido en un recipiente adecuado para contener las muestras, en este caso fase móvil para HPLC.

2. Impregnar el swab con el disolvente que se ha preparado.

3. Pasar el swab sobre una superficie concreta del equipo (se tiene que ser una parte crítica, es decir, una zona en contacto con el producto donde puede quedar restos de la sustancia analizada)por un lado en la dirección horizontal, y con el otro lado en la dirección vertical.

Nota: Se utiliza una plantilla con un cuadrado de 5 cm de lado para poder muestrear una superficie total de 25 cm², excepto en algunos puntos críticos donde se utiliza la superficie completa de la pieza ya que no se pueden adaptar al cuadrado de muestreo.

4. Repetir la etapa n°3 con un swab seco.

5. Introducir los dos swabs en el recipiente con el disolvente.

6. Se deja agitar 10 min en ultrasonidos.

7. Filtrar y analizar por HPLC.

Es conveniente tomar muestras de diferentes partes del equipo, para comprobar que la limpieza es correcta en todo el equipo.

7.5.2 MÉTODO DEL AGUA DE LAVADO

Medir una cantidad de agua desionizada adecuada al volumen del equipo y ponerlo en marcha durante un tiempo adecuado (aproximadamente el tiempo estándar para elaborar un lote). Al terminar, tomar tres muestras diferentes y leer la absorbencia.

Si tiene que hacer diluciones pertinentes para poder extrapolar las lecturas a la recta de calibración.

7.6. FACTOR DE RECUPERACIÓN

Factor de recuperación (exactitud): Es la capacidad de recuperación que presenta la metódica analítica aplicada. Se evalúa adicionando cantidades conocidas del principio activo trazador a una superficie previamente definida ($10 \times 10 \text{ cm}^2$) se trabaja con tres concentraciones diferentes. Se realiza también un blanco, es decir se muestrea otra placa limpia de la misma manera. Los resultados recuperados se comparan con el contenido teórico de patrón preparado para cada concentración.

Nota: El factor de recuperación depende del tipo del material de construcción por lo cual se tiene que tomarlo en consideración a la hora de hacer el estudio.

Preparación del Blanco Swab:

- a. Llenar un vial con el disolvente apropiado.
- b. Introducir el swab dentro del vial.
- c. Escurrir el swab en la pared del vial.
- d. Frotar el swab sobre una placa limpia ($10 \times 10 \text{ cm}^2$) sin carga de API.
- e. Cortar la punta del swab por presión y dejarlo en el vial.
- f. Pasar un segundo swab seco sobre la placa.
- g. Cortar la punta del swab. Ponerla en el vial con la del primer swab.
- h. Poner el tapón con el septum. Agitar 10 min en ultrasonidos.
- i. Analizar el contenido de la muestra: filtrar la muestra y analizar por HPLC.

Preparación de los viales de la solución patrón:

- 1- Preparar la solución patrón con la concentración interesada.
- 2- En una placa de superficie ($10 \times 10 \text{ cm}^2$) y con micropipeta o pipeta poner una cantidad (100-200 μL) que contenga una concentración equivalente al límite de aceptación.
- 3- Dejar secar la placa durante una hora.
- 4- Frotar la placa empleando la misma técnica que con el blanco de swab.
- 5- Repetir el procedimiento por triplicado sobre tres placas.

- 6- Analizarlo por el método analítico seleccionado.
- 7- Repetir para cargas superiores e inferiores a la concentración teórica calculada.

Para el cálculo se usa la siguiente fórmula:

$$\% \text{ Recuperación} = \frac{(\text{Cantidad obtenida con solución patrón} - \text{Cantidad obtenida con el blanco}) \times 100}{\text{Cantidad teórica a obtener}}$$

7.7. CÁLCULO DE LAS CONCENTRACIONES CONTAMINADAS ENCONTRADAS

1. Leer las respuestas de contenido de las muestras analizadas.
2. Hacer la media de las respuestas de los tres replicados que corresponden a una misma parte del equipo.
3. Calcular la concentración a partir de la recta patrón $y = A + Bx$

a partir de la fórmula:

$$x = \frac{y - A}{B}$$

4. Aplicar el factor de recuperación encontrado para dar el resultado final.

PUBLICACIONES Y COMUNICACIONES

Artículos:

- Rezquellah, W.; García-Montoya, E.; Pérez-Lozano, P.; Suñé-Negre, J.M.; Miñarro, M.; Ticó, J.R. *Applying quality management to cleaning validation*. GMP Reviews. 2011; 10 (2): 10 – 13.
- Rezquellah, W.; García-Montoya, E.; Pérez-Lozano, P.; Suñé-Negre, J.M.; Miñarro, M.; Ticó, J.R. *GMPs for the 21st century and cleaning validation*. European Journal of Parenteral & Pharmaceutical Sciences. 2011; 16 (3): 78-83
- Artículo enviado el 16 de septiembre del 2015 al Journal of AOAC INTERNATIONAL.

Autores: Rezquellah, W.; Pérez -Lozano, P; Escolano-Mirón, C; Martínez-Viñas, MJ; Suñé-Negre, JM; Ticó, JR; Miñarro, M; García-Montoya, E.

Título: *Risk management for the analytical cleaning validation of a multipurpose pilot plant having quetiapine fumarate as tracer drug.*

Comunicaciones:

- Póster, Congreso SEFIG. Madrid 2-4 Febrero 2011
Título: *Validación de limpieza de equipos de fabricación en una planta piloto universitaria.*
- Póster, Congreso SEFIG, Alicante 6-8 Febrero 2013
Título: *Aplicación de la ICH8 a la validación de limpieza: Espacio de Diseño.*
- Póster, Congreso AEFI. Barcelona 12-13 Mayo 2015
Título: *Aplicación del concepto de seguridad toxicológica al cálculo de las especificaciones de limpieza en planta piloto farmacéutica.*

gmp review

analysing international pharmaceutical regulations

Beyond GMP compliance

The role and structure of
pharmacopoeias: Part 2

GMPs for the 21st century

Guide to GMP: Chapter 8 revised

EU GMP Guide Annex 11



vol 10 no 2 July 2011



Applying quality management to cleaning validation

In 2002, the US Food and Drug Administration (FDA) launched a new initiative concerning the regulation of drug product quality: "Pharmaceutical GMPs for the 21st century: a risk-based approach".

The initiative has been continuously developed and many of the tools and techniques described and discussed feature in articles on GMPs for the 21st century. Some have already been applied to cleaning validation. PAT (Process Analytical Technology), QbD (Quality by Design, ICH Q8), risk analysis (ICH Q9), ICH Q10, Six Sigma, lean manufacturing and visually clean are examples that come to mind.

Process Analytical Techniques (PAT)

Of all these new methodologies, PAT appears most often or has been the subject of most attempts to apply it to cleaning validation. However, other interesting topics have also appeared, such as:

- New criteria for chemical acceptance limits that use a scientific approach to calculate limits rationally on the basis of toxicity, thus avoiding current inconsistencies.
- Microbiological validation.
- New methods of analysis that affect the results.
- New techniques using visually clean.
- Parametric release.

This article discusses the use of PAT techniques in cleaning validation and will be followed in later issues by discussions on the other topics mentioned above.

The use of PAT in cleaning validation

A PAT system is a system for designing, analysing and controlling a process while it is actually running. Emphasis is placed on the use of tools such as analytical sensors, uni- and multivariate data analysis and information management systems. These are synchronised with the ultimate aim of understanding, optimising and even controlling manufacturing or cleaning processes.

The tools can also be used to supplement the information required for a validation exercise or to optimise the process in real time. If so used, cleanliness-indicating parameters for the equipment or system must be identified before the exercise is carried out. If the current procedures are fixed, it must surely be possible to reduce routine

cleaning times by making them specific to each process.

For example, one application of PAT in cleaning validation is not to sample the surface to be checked by using rinse or swab analysis. Instead, the equipment is continuously monitored. Laboratory instruments are brought into the production environment either at-line beside the manufacturing equipment or on-line and incorporated into the manufacturing equipment.

Clean-in-Place

Adapting to automation requires some effort but provides real-time test results and automated control. The process conditions can be adjusted so that the final product outcome remains constant. On-line use of analytical equipment speeds up and simplifies cleaning verification and enhances validation results. A thorough understanding of the process is gained together with optimisation. Best of all, there is no interference with or interruption of the process.

In fact, the CIP (Clean-in-Place) systems used for years in the pharmaceutical industry are an example of PAT.

Optimising the process

Most cleaning validation studies focus on the process, not the cleaning time. The process time is controlled and conductivity is monitored at the end. If the principles of PAT are followed it is the other way round. Conductivity is controlled during the process and time is monitored at the end (it will be variable). It is clear that the application of PAT tools make it easier to optimise processes, reducing resources and time, as they help to detect and control critical parameters. Once these are established, data consistency can be checked and validation performed.

Analytical techniques for PAT

PAT measuring devices that can be used to verify cleaning after the end of the CIP cycle typically include conductivity or pH meters to measure residual cleaning product, Total Organic Carbon (TOC) analysers to measure residues of products or cleaning agent and UV detectors to determine absorbance for protein residues.

Use of narcotics detectors

However, two DART (Direct Analysis in Real Time) techniques have been introduced more recently for cleaning validation, namely IMS (Ion Mobility Spectrophotometry) and ITMS (Ion Trap Mobility

Spectrophotometry). These techniques are not new, having been used for some time in the security industry to detect narcotics and explosives at airports. They are based on the speed with which ions move through a gaseous conductor under the influence of an electric field. They can detect small compounds and pharmaceuticals. Both methods were among the earliest ionisation techniques to require no sample preparation. This makes a whole new range of compounds accessible to analysis by mass spectrometry because ionisation can take place directly on the surface of the sample. IMS is also much faster and more accurate than the HPLC and TOC methods used previously.

PAT – NIR

The case of PAT – NIR (Near-Infrared Process Analytical Technology) and its applications in cleaning validation is particularly striking. The method is based on examining swabs directly by NIR, using alcohol as a solvent. Sample preparation is quick as there is no need to extract the cotton in the test solution (which tends to be time-consuming and a source of error) and more compounds can be analysed.

In one example, analysis time was reduced by about 60% because the shorter sample preparation time and the simplicity of the method enabled it to be used more easily by operators in the plant instead of quality control analysts.

Ecological benefit

Clearly, progressive implementation of PAT for cleaning validation will help to develop better, more efficient cleaning processes that take less detergent, water and time. The current situation in which just one cleaning method is used makes no economic sense, if each product can have its own

optimal method, which will always be more appropriate (ecologically, for example) and cheaper.

One step at a time

A stepwise approach to implementation is summarised in Table 1. The first step is to use off-line PAT methods to monitor and reduce (optimise) cleaning time.

In the second step the cleaning process is monitored at-line with the analytical apparatus beside the equipment and controlling it.

The third and final step is to allow the equipment to be managed automatically by the PAT apparatus on-line. The process is released by the automated system itself immediately on completion.

Summary of the use of PAT in cleaning validation

On-line PAT techniques will enhance the control of the cleaning procedures, minimising time and resources and allowing automatic release of equipment for the next product. Initially, these analytical techniques should be used to control and monitor the cleaning process. On the basis of this monitoring, the cleaning process design space can be set up. An example of this would be to relate parameters such as temperature, pressure, time and % detergent to analytical indicators such as pH or TOC.

With a specific design space established for each product the cleaning process becomes more effective, allowing total control of the process. Release takes place when the pre-set limit is reached not after a certain standard time has elapsed. The validated state is thus progressively enriched batch by batch, in line with FDA validation guidelines.

Table 1: The progressive implementation of PAT in cleaning validation.

Phase	Outcome
Phase I Analysers (IMS, DART, UV, NIR) used to visualise and understand the process.	Optimisation of cleaning process.
Phase II Routine monitoring of optimised cleaning process (at-line; the equipment is not yet run by PAT).	Release takes place once operator has checked compliance of control parameter.
Phase III Cleaning analysis on-line during the actual process. Cleaning process under real-time self-regulation and control.	Clean equipment released immediately. Batch-by-batch validation.

The authors are at the Department of Pharmaceutical Technology, University of Barcelona, Spain.

Corresponding Author:

Encarna García Montoya.

Universidad de Barcelona. Avda. Joan XXIII s/n. 08028 Barcelona, Spain

Telephone: +34-934 034712

Fax: +34-934 024546

encarnagarcia@ub.edu.

Further Reading

FDA (2004). Pharmaceutical GMPs for the 21st Century – a risk-based approach. Final report, US Department of Health and Human Services, US Food and Drug Administration. www.fda.gov

White EK. *Biopharm*. Risk-based cleaning validation in biopharmaceutical API manufacturing, 1 Nov 2005.

Ebner CK. *Pharmaceutical Technology*. Implementing a PAT strategy, Mar 24, 2006.

Hyde JM. *Control Engineering*. PAT for pharmaceutical cleaning control and instrumentation techniques for CIP systems consistent with process analytical technologies practices can improve product quality while reducing costs, Jan 4, 2007.

Hellings M. *American Pharmaceutical Review*. The application of PAT for cleaning validation, Jul-Aug 2008.

Brand D, Li X-S, Wortley. *GE Sensing*. Ion trap mobility spectrometry - reducing down time in cleaning validation and verification, 2009.

Mehta NK *Biopharm*. Development of an *In Situ* spectroscopic method for cleaning validation using mid-IR fiber-optic. May 2002.

Hipólito DJS. La inspección visual remota como extensión de la inspección de la inspección visual en superficies confinadas o de acceso limitado, www.aendur.ancap.com.uy/boletin/Jor Tec/Trabajos/Trabajo8.PDF

Bakeev KA. *Process Analytical Technology*, Blackwell Publishing Ltd, 2005.

Schiffmann A *et al*. WIP/CIP and closed equipment systems in the field of pharmaceutical solid dosage forms. *Pharma Technologie Journal* No. 1080, pp 206-223, 2000.

Rohe T. Near Infrared (NIR) Spectroscopy for in-line monitoring of polymer extrusion processes, *Talanta* Volume 50, Issue 2, 283-290, September 13, 1999.

Penny B. Time to switch to TOC? *Cleanroom Technology*, February 1, 2004.

Increase productivity
and reduce costs with
55 case studies +
feedback from
FDA and
MHRA

BioProduction

19-20 October 2011, Maritim proArte Hotel, Berlin, Germany

Discover the latest tools, technologies and processes optimising bioproduction, ensuring product quality, process efficiency and regulatory success

Global Panel of Senior Level Decision-Makers from Industry's Most Distinguished Companies, Regulators and Academics



Dr Paul Varley,
VP, Biopharm
Development,
MedImmune, UK



Dr Keith Chidwick,
Senior Pharmaceutical
Assessor,
MHRA, UK



Dr Gert Mølgaard,
VP, Strategic Development,
NNE Pharmaplan,
Denmark



Professor Jürgen Hubbuch,
Professor,
Karlsruher Institut für
Technologie (KIT), Germany



Mrs Ellen McCormick,
Senior Director,
Bio-Manufacturing Sciences,
Pfizer, USA



Professor Florian Wurm,
Swiss Federal Institute
of Technology Lausanne
Switzerland



Dr Hans-Martin Mueller,
Global Head,
Biotech GMP,
Merck, Switzerland



Dr Sheryl Martin-Moe,
Global Head Biologics
Pharmaceutical Development,
Novartis, Switzerland

NEW FOR 2011:

- 10+ data-driven sessions on biosimilars, manufacturability, novel therapies, new technologies, low-cost expression systems, formulation... plus many more
- 5 interactive panels on process validation, supplier prequalification, QbD, biosimilars and ICH Q11
- Regulatory feedback from MHRA and FDA on implementing QbD
- On-stage plenary interviews with key figures from Pfizer, GSK and MedImmune
- SME Licensing and Partnering Workshop
- Free Training Seminar on "How to Manage an Effective Team"

www.bio-production.com

Produced by:

informa
life sciences

Part of:



Corporate Sponsor

sartoriusstedim
a i. m. l. e. c. h

Associate Sponsors

GE Healthcare



To Register Please Tel: +44 (0)20 7017 7481 Fax: +44 (0)20 7017 7823

Email: registrations@informa-ls.com Web: www.bio-production.com Please Quote VIP Code: CQ3446GMPAD

GMPs for the 21st century and cleaning validation

W Rezquellah, E García-Montoya*, P Pérez-Lozano, JM Suñé-Negre, M Miñarro, JR Ticó
Pharmacy and Pharmaceutical Technology Department, University of Barcelona, Spain

This paper describes the various methodologies involved in the implementation of new tools for cleaning validation. These methodologies are being developed to optimise the cleaning validation, and published experiences include the implementation of PAT (Process Analytical Technologies), QbD (ICH Q8), risk analysis (ICH Q9), ICH Q10, Six Sigma, Lean Manufacturing and the criteria of visually clean. In addition, new approaches are being used to establish acceptance limits for cleaning residues, which are based on the Threshold of Toxicological Concern (TTC). This approach is widely used by authorities that produce regulatory guidance and should allow limited safety data to determine an acceptable daily intake value based on known toxicological data of chemicals. The aim of this paper is to provide an updated view of the possibilities for working on the necessary improvement and optimisation of methods for cleaning validation in line with current methodologies being applied in so-called 21st century GMPs.

Key words: Cleaning, validation, QbD, risk analysis, PAT, TTC

Introduction

Is the US Food and Drug Administration's (FDA) initiative on drug product quality, "Pharmaceutical GMPs for the 21st century" affecting cleaning validation? Cleaning validation must obviously evolve just like other aspects of the pharmaceutical industry that remained fixed for years, for example, pharmaceutical development, process validation and risk analysis.

Cleaning validation must be carried out in order to check that residues (product, microbiological material and cleaning agents) are effectively removed from equipment to an acceptable level. Traditional analysis for cleaning validation purposes involves several points: the product must be extracted from swabs; complex sample preparation is normally required; testing is destructive; and the ability to control all ingredients or contaminants is limited. The fact is that agencies and drug manufacturers require rigorous control of cross-contamination, so the pharmaceutical industry and related sectors need to continue developing and optimising validation and verification of routine monitoring.

Validated cleaning procedures are used today for any equipment or batch. This means methods are reproducible, but not always optimal. This is where GMPs for the 21st

century come into their own, because their objective is quality, but productivity needs to be maintained. Using them, however, means knowing which tools to apply and checking that they are perfectly suited to the field of cleaning validation. In this way, the time and cost of developing validated processes can be reduced; more efficient, effective, consistent cleaning cycles can be employed, and higher levels of safety and quality assurance can finally be achieved.

What are GMPs for the 21st century?

In 2002, the FDA launched a new initiative "Pharmaceutical GMPs for the 21st Century: a risk-based approach". This initiative is being continually developed and many of the techniques are described and discussed.

Several techniques and tools feature in articles on GMPs for the 21st century, and many of them have already been applied to cleaning validation: Process Analytical Technology (PAT), Quality by Design (QbD; ICH Q8), risk analysis (ICH Q9), ICH Q10, Six Sigma, lean manufacturing, and visually clean.

Of all the new methodologies, it should be stressed that PAT is the one that has been applied most to cleaning validation so far¹⁻⁴. However, other interesting processes have also featured, such as:

- new criteria for chemical acceptance limits, using a scientific approach that involves calculating limits rationally on the basis of toxicity, avoiding the inconsistencies that arise with the current limits;

*Corresponding author: Encarna García Montoya, Universidad de Barcelona, Avda. Joan XXIII s/n, 08028 Barcelona, Spain; email: encarnagarcia@ub.edu

- microbiological validation;
- new methods of analysis that affect the results;
- visually clean;
- parametric release.

This article reviews various studies in which these tools (some new, others less so) have been applied and found to be useful, as has happened in the past with issues of pharmaceutical development or risk analysis, in order to obtain an up-to-date view of this area's potential and the current applications.

Examples of PAT use in cleaning validation

A PAT system is a system for designing, analysing and controlling processes while the process is actually running. With these systems, emphasis is placed on using a series of tools, such as analytical sensors, uni- and multivariate data analysis and information management systems, that can be synchronised in order to understand, optimise and even control manufacturing or cleaning processes.

They could also be used to supplement validation or to optimise the process in real time, which requires prior identification of cleanliness-indicating parameters for the equipment or system. The idea is that, as the current procedures are fixed or standard, it must surely be possible to reduce routine cleaning times by making them specific to each process.

For example, one application of PAT in cleaning validation is not to sample the surface to be checked by rinsing/swabbing, but to monitor the equipment continuously. Laboratory instruments are thus brought into a production environment, either at-line beside the manufacturing equipment or on-line incorporated into the manufacturing equipment.

Adapting to automation requires prior effort, but provides real-time test results and automated control, to adjust the process conditions so that the final product outcome remains constant. It means moving the analytical tools on-line to speed up and simplify cleaning verification and improve validation results. The

advantages gained are a thorough understanding of the process, optimisation and, best of all, no interference with or interruption of the process. In fact, the Clean-in-Place (CIP) systems used for years in the pharmaceutical industry are an example of PAT.

Most cleaning validation studies focus on the process not the cleaning time. With this approach, the process time is controlled and conductivity is monitored at the end. With PAT it is the other way round: conductivity is controlled during the process and time is monitored at the end (it will be variable). It is clear that the application of PAT tools will make it easier to optimise processes (reducing resources and time), as they help to detect and control critical parameters, and, once these are established, data consistency can be checked and validation performed.

Analytical techniques using PAT for cleaning validation

The types of PAT measuring devices that can be used to verify cleaning after the end of the CIP cycle typically include conductivity or pH meters to measure residual cleaning product, Total Organic Carbon (TOC) analysers to measure residues of products or cleaning agent, or UV detectors to determine absorbance for protein residues (see **Table 1**)^{1,5-12}.

However, two Direct Analysis in Real Time (DART) techniques have been introduced more recently for cleaning validation, namely Ion Mobility Spectrophotometry (IMS) and Ion Trap Mobility Spectrophotometry (ITMS). These techniques are not new, having been used for some time in the security industry to detect narcotics and explosives at airports. They are based on the speed with which ions move through a gaseous conductor under the influence of an electric field. They can detect small compounds and pharmaceuticals. Both methods were among the earliest ionisation techniques to require no sample preparation. This makes a whole new range of compounds accessible to analysis by mass spectrometry, as ionisation can take place directly on the surface of the sample. IMS is also much faster and more accurate than the HPLC and TOC methods used previously⁵.

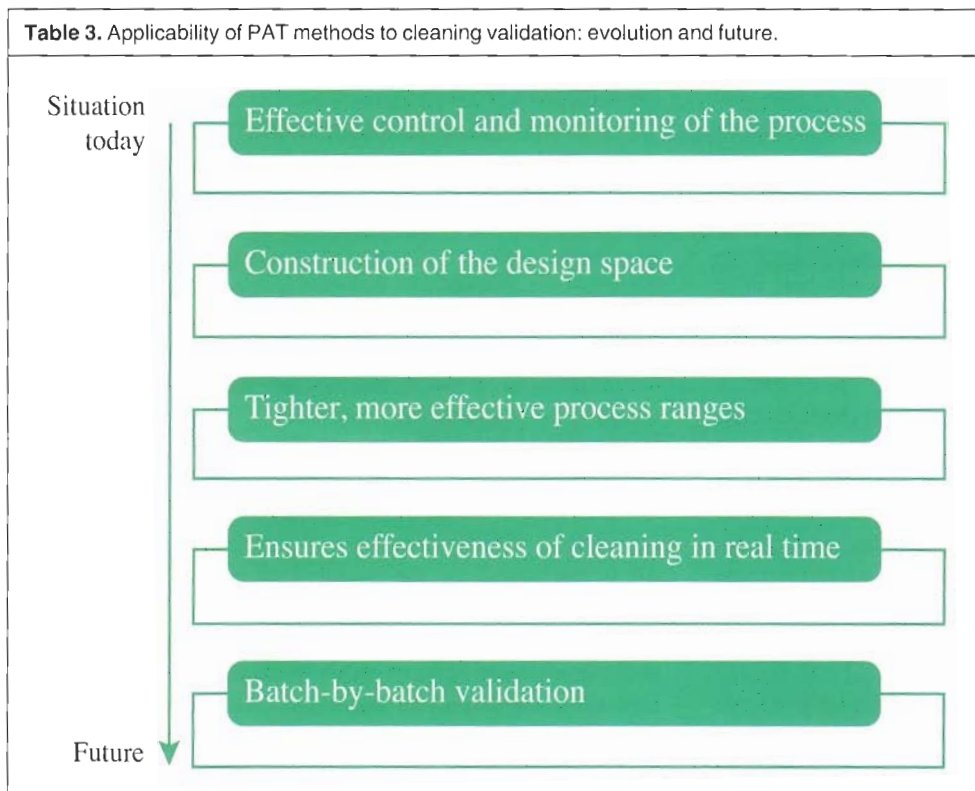
Table 1. Analytical techniques used in PAT systems for cleaning verification.

Analytical technique	Characteristics and/or advantages of the technique
IMS/ITMS	Off-line ⁵ ; 10-second test, leaves no residue, no sample preparation needed ⁶
Mid-IR fibre-optic	Spectrophotometric detection of residue (API, detergent or mixture) directly on the surface, 30-second test, detects thickness of layer ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$) ⁷
Remote visual inspection	UV-light cameras inside the tank (riboflavin solution detected by its shine), for localised areas of equipment (video or photos) to compare with cleanliness standard ⁸
UV	Double-beam diode-array analyser fitted with resistant fibres and 10mm in-line cuvettes; yields spectrum ⁹
Temperature, flow, pressure sensors	CIP ¹⁰
Conductivity, pH	CIP ¹
NIR	Swab identified directly in NIR apparatus ¹¹
TOC	Incorporated into the equipment ¹²

API: active pharmaceutical ingredient.

Table 2. Methodology and results for progressive implementation of PAT in cleaning validation.

	Methodology	Results
Phase I	Analysers (IMS, DART, UV, NIR) used to visualise and understand the process	Optimisation of cleaning process
Phase II	Routine monitoring of optimised cleaning process (at-line; the equipment is not yet run by PAT)	Release takes place once operator has checked compliance of control parameter
Phase III	Cleaning analysis on-line during the actual process	Clean equipment released immediately
	Cleaning process under real-time self-regulation and control	Batch-by-batch validation

Table 3. Applicability of PAT methods to cleaning validation: evolution and future.

The case of Near-Infrared Process Analytical Technology (PAT-NIR)¹² and its applications in cleaning validation is particularly striking. The method is based on examining swabs directly by NIR, using alcohol as a solvent. Sample preparation is quick, as there is no need to extract the cotton in the test solution (which tends to be time-consuming and a source of error), and more compounds can be analysed.

Analysis time was reduced in this case (~60% reduction) because of the shorter sample preparation time and because the simplicity of the method enables it to be used more easily by operators in the plant instead of quality control analysts.

Clearly, progressive implementation of PAT for cleaning validation will help to develop better, more efficient cleaning processes, that take less detergent, water and time. The current situation in which just one cleaning method is used makes no economic sense, if each product can have its own optimal method, which will be more appropriate (ecologically, for example) and cheaper.

This must be done step by step, however (Table 2). The first step is to use off-line PAT methods to monitor and reduce (optimise) cleaning time. Secondly, the cleaning process is monitored at-line, i.e. the analytical apparatus is beside the equipment and is used to control it. Thirdly, the equipment is managed automatically by the PAT apparatus, which is included on-line. The equipment is released immediately on completion by the automated system itself.

Table 3 illustrates the application of PAT to cleaning validation. Initially, these analytical techniques are used to control and monitor the cleaning process. On the basis of this monitoring, the cleaning process design space can be set up (relating parameters such as temperature, pressure, time and % detergent to analytical indicators such as pH, TOC, etc).

With a specific design space for each product, the cleaning process will be more effective, allowing 100% control of the process. Release takes place when the pre-set limit is reached, not after a certain standard time

has elapsed. The validated state is thus progressively enriched batch by batch, in line with FDA validation guidelines¹³.

Applying Q8 and design space concepts to cleaning validation

There have been a number of studies in which ICH Q8 criteria were applied to cleaning validation^{14–20}. Rathore¹⁸ tested four factors (including temperature, detergent concentration, speed and how long equipment stays dirty before being cleaned) under different conditions, and used Design of Experiments (DoE) to deduce the main factors and interactions.

Based on the design outcome, the author divided products into those that should be cleaned using a general standard operating procedure (SOP) and those requiring specific SOPs with more specific conditions, obtained from the DoE results. By this stage, Rathore really had a very good understanding of the process, and was able to decide

Table 4. Parameters to consider when implementing the visually clean technique.

Visible residue limit; parameters that influence its detection or visibility	Parameters:
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Compound in solution or suspension 2. Material of construction 3. Known amount of residue (spot) 4. Consistent spot size 5. Drying in nitrogen atmosphere
	Set viewing parameters with 3 or more observers and calculate:
	<ol style="list-style-type: none"> 1. Visible residue limit (VRL) 2. Acceptable chemical residue limit (ARL)

whether it was best to create a different SOP for each product. This is interesting if PAT control is used, because it will adapt to each product, without wasting resources.

The alternative is to find a method that is valid for them all, which will be the most stringent and longest, meaning that resources are used needlessly on processes where they are not required.

However, it is not always essential to do a full DoE. Shaznez¹⁵ intuitively carried out a small-scale experimental design in order to understand processes better and predict large-scale performance. This makes it possible to determine worst-case operating conditions and check whether a process still satisfies performance requirements under these conditions.

Applying ICH Q9 risk analysis concepts to cleaning validation

Risk analysis is a very useful, coherent technology to apply to cleaning validation, as it helps to organise and plan validation from a rational point of view. A process is divided into independent parts and each one is analysed against the three parameters severity, detectability and probability. Published articles follow the same system^{21–23}.

More criteria and specifications could be set for cleaning validation, however. The idea is that the method should identify the most critical situations (the most difficult to clean) and highlight them so that they can be dealt with before less critical ones.

Visually clean

This concept is based on some early cleaning validation studies in 2004. It is defined as the limit below which a residue is not visible under defined parameters. These parameters are summarised in **Table 4**.

Forsyth's extensive work (2004–2009)^{24–31} demonstrates the applicability of the visually clean method, but validating it still requires work and a

standardised set of criteria. Forsyth's idea is clear: visible residue limits (VRL) and acceptable residue limits (ARL) must be calculated and compared.

If $VRL > ARL$, the equipment will have to be analysed chemically, by default. The ARL will not be applicable. However, if $VRL < ARL$, the method can potentially be used under well-defined parameters of distance, ambient light intensity, angle of view and residue appearance, as shown in **Table 5**²⁸.

Lean manufacturing and cleaning validation

Lean means combining the best processes and practices in order to optimise resources and yield the best product in the least time and at the lowest cost. Lean is a component of Total Quality Management (TQM), continuous improvement, zero defect, Six Sigma and other tools that involve making the right thing, at the right time, in the right place, in the right amount and doing it right first time.

Lean was focused on one-piece flow, defending value from the client's point of view, based on eliminating waste in a minimum inventory, at full working capacity, aiming for fast cycle times and product optimisation by product line.

Little experience of applying Lean within the pharmaceutical industry has been published^{32,33}. The most striking example found is that of Altria *et al.*, where 333 million Euros were saved in 2004 after the methodology was applied in the company's pharmaceutical development department³². The authors describe a process of improvement based mainly on the statistical tools of Six Sigma, and these same criteria were subsequently incorporated into the QbD programme. The programme was finally called Lean Sigma. The authors carried out various projects, including one called Lean Lab, which they describe.

One finding was that about 15% of time was spent walking to access equipment, computers or materials. The inventory was also found to contain unused equipment.

Table 5. Conditions to consider when applying VRL methodology in an industrial plant²⁶.

Characteristics of the industrial plant	Equipment surfaces generally larger More CIP More limited dismantling Restricted viewing parameters
Viewing parameters	Distance: 5–20 feet Light intensity: 100–1400lux Angle of view: 15–90°
Limitations of the technique	Inherent in the residues themselves Distance ≥ 10 feet Light intensity ≤ 200 lux Angle of view $\leq 30^\circ$
Staff training	Full training needed for most APIs: some look similar Stressed viewing conditions: light and angles of view Unavoidable redundancy: two people checking Staff rotation

This was causing the department unnecessary expense, as being in the system meant that it underwent calibration and SOP updates, etc., despite not being used. The immediate actions implemented were to alter lay-outs, reassign responsibilities and get rid of obsolete equipment. Staff also became involved and made suggestions for improvements, which were likewise implemented. In economic terms, the end results demonstrated that the system is worth implementing.

At the cleaning validation level, the implementation of Lean is again related to the use of PAT tools and CIP. In fact, Lean is a way of doing things in general, applied mainly to production. Its principles are clear: eliminate waste, reduce inventory and produce high-quality products efficiently and economically. If the process is improved, monitored and controlled in real time, Lean principles are being followed³³.

Parametric release for cleaning

Parametric release, as defined by the European Organisation for Quality, is a system of release that gives the assurance that the product is of the intended quality based on information collected during the manufacturing process and on the compliance with specific GMP requirements related to parametric release³⁴.

Parametric release should improve product quality through process control and allow batch release in real time. Applying this tool to cleaning validation, Sharnez¹⁷ describes it as a good alternative to periodic testing, offering various benefits such as:

- reduced time and cost of the development cycle;
- more efficient, effective, consistent cleaning cycles;
- high level of cleaning assurance.

According to the author, it might also remove the need to validate the cleaning process three times.

Criteria for parametric release¹⁷

For an item of equipment to be released in real time, the small-scale experiments must meet the performance specifications under the worst-case operating conditions, and critical process parameters (CPPs) must be controlled within their respective acceptable ranges. If the small-scale experiments do not meet the performance requirements, the duration of a caustic wash and the rinse steps could be extended until the performance criteria are met. An average of about 20% can also be added to the duration at full scale to take account of errors associated with the instrumentation, and variability of raw materials and equipment over the lifecycle of the process.

The TTC concept in cleaning validation

The last few years have seen the advent of publications in which limits for cleaning validation are set on the basis of the Threshold of Toxicological Concern (TTC). The basic principle behind the concept of TTC is that, for chemicals with limited safety data, it may be possible to determine an acceptable daily intake (ADI) based on known

chemical data, where there is an established database containing information on ADI values^{35,36}.

Frawley established the concept of TTC in 1967. Various later publications perfected the idea, and, in 1995, the FDA adopted it to control contaminants migrating from packaging materials into foods.

The concept has been extended to cover other chemicals not regarded as carcinogenic², and for use in the pharmaceutical industry. In its guideline on the limits of genotoxic impurities, the European Medicines Agency employed the principles of TTC to set a limit of 1.5µg/day for genotoxic residues in pharmaceuticals³⁷. This is also the case for ICH guidelines on chemical impurities in APIs³⁸, finished product³⁹ and limits for residual solvents in APIs⁴⁰.

The concept has also been applied to cleaning validation⁴¹. Based on occupational exposure limits for workers in the pharmaceutical industry and cleaning process residues, Dolan estimated ADI values for chemicals with limited toxicity data. He proposes three ADI values for three categories of compounds:

- 1µg/day for suspected carcinogens;
- 10µg/day for non-carcinogenic APIs considered potent or highly toxic;
- 100µg/day for non-potent APIs that are not highly toxic.

Other papers^{42,43} compare acceptance limits evaluated on a TTC basis and by traditional methods of calculation. For example, Forsyth²⁴⁻²⁶ compares acceptance limits calculated using the following criteria:

- visually clean;
- trace presence (10ppm in the next product);
- TTC with 100µg/day (products of low toxicity).

Forsyth's study was conducted in a pilot plant, where most products are of low toxicity. The value of 100µg/25cm² or 4µg/cm² was found to be generally the most stringent provided the equipment is visually clean. For this application, Forsyth suggests using a limit of 100µg/25cm² swab or 4µg/cm² as a proposed alternative to constant evaluation of the acceptance limits.

Leblanc⁴³ discusses the applicability of the TTC concept to cleaning validation, comparing acceptance limit values calculated by three different methods. The API examined was simvastatin and the results found are shown in **Table 6**. According to Leblanc, the applicability of this concept requires further analysis by cleaning validation professionals and toxicologists, and additional factors need to be considered, such as patient exposure risk and administration route.

It should be noted that, according to Kroes *et al.*⁴⁴, certain classes of compounds are excluded from the TTC concept, such as heavy metals, polyhalogenated dibenzo-p-dioxins, dibenzofurans, biphenyls, chemicals that affect the endocrine system (including steroids), high-molecular-weight compounds (e.g. polymers and proteins), organophosphates and allergens.

Usually, acceptance limits are calculated using more than one criterion and the most stringent (i.e. lowest) limit obtained is selected. As TTC values are based on the worst

Table 6. Simvastatin acceptance limits calculated by the three usual methods.

Calculation method based on:	Limit
Dose	14µg/g
TTC	286µg/g
Toxicity	651µg/g

case, they generally tend to be lower. The TTC makes it possible to simplify calculations for setting cleaning residue acceptance limits.

Conclusion

Current trends in the field of cleaning validation have been reviewed. After a period of relative stagnation, progress is now being made in this area within the context of the so-called GMPs for the 21st century. We believe that the two tools that are easiest to apply and have the greatest potential for cleaning validation are ICH Q8 and calculating the acceptance limit based on the TTC. ICH Q8 will make it easier to obtain more efficient procedures (less expensive and more effective) whereas, if toxicological data exist, the TTC approach provides an acceptance limit based on good reasoning and simple calculations.

There is no doubt that these tools are contributing added value and will help the cleaning methods of the pharmaceutical industry become more efficient, effective and economical, which will probably lead to safer, more efficient, more effective, cheaper medicinal products.

References

- White EK. Risk-based cleaning validation in biopharmaceutical API manufacturing. *BioPharm* 2005; 1 November.
- Chiarello-Ebner K. Implementing a PAT strategy. *PharmTech* 2006; 24 March.
- Hyde JM. PAT for pharmaceutical cleaning control and instrumentation techniques for CIP systems consistent with process analytical technologies practices can improve product quality while reducing costs. *Control Engineering* 2007; 4 January.
- Hellings M. The application of PAT for cleaning validation. *Am Pharmaceut Rev* 2008; Jul–Aug.
- Eiceman GA, Karpas Z. Ion mobility spectrometry, 2nd Ed. Boca Raton, FL: CRC Press, 2005.
- Brand D, Li X-S, Wortley T, Sensing GE. Ion trap mobility Spectrometry – reducing down time in cleaning validation and verification. *Pharmaceut Technol* 2009; 33(7):60–63.
- Mehta NK, Goenago-Polo J, Hernandez-Rivera SP, et al. Development of an *in situ* spectroscopic method for cleaning validation using mid-IR fiber-optic. *BioPharm* 2002; 21 May.
- Hipólito DJS. La inspección visual remota como extensión de la inspección de la inspección visual en superficies confinadas o de acceso limitado, 2002. www.aendur.ancap.com.uy/boletin/lorTee/Trabajos/Trabajo8.PDF
- Bakeev KA. Process analytical technology. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2005.
- Schiffmann A. WIP/CIP and closed equipment systems in the field of pharmaceutical solid dosage forms. *Pharma Technologie* 2000; 1080:206–223.
- Rohe T. Near infrared (NIR) spectroscopy for in-line monitoring of polymer extrusion processes. *Talanta* 1999; 50:283–290.
- Bristol P. Time to switch to TOC? *Cleanroom Technol* 2004; 1 February.
- Federal Drug Association. Process validation: general principles and practices. Silver Spring, MD: FDA, January 2011. <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM070336.pdf>
- Shaznez R. New perspectives on cleaning: don't bet on quality by chance. Part I. *J Validation Technol* 2008; Spring.

- Shaznez R. New perspectives on cleaning: don't bet on quality by chance. Part II: Leveraging small-scale models to streamline validation. *J Validation Technol* 2008; Summer.
- Shaznez R. New perspectives on cleaning: don't bet on quality by chance. Part III: Validation for the haul. *J Validation Technol* 2008; Autumn.
- Shaznez R. New perspectives on cleaning: don't bet on quality by chance. Parametric release for cleaning. Part I: Process characterization. *J Validation Technol* 2009; Summer.
- Rathore. Ejemplo de un DoE para determinar el método limpieza idóneo. San Mateo, CA: Biopharm, 2009.
- LeBlanc DA. "Design space" for cleaning process. *Cleaning Validation Technol Memos* 2009; September.
- LeBlanc DA. The changing paradigm for cleaning validations. *Cleaning Validation Technol Memos* 2009; August.
- Schneider SMOL. Cleaning validation in the pharmaceuticals industry. *Pharmaceut Int* 2008. <http://www.pharmaceutical-int.com/categories/centrifuge-technology-solutions/cleaning-validation-pharmaceuticals-industry.asp>
- Salazar, Pujol, Boya. Libro de Cualificación y validación, elementos básicos de la calidad y productividad industrial; R Salazar, Ed. Barcelona; Romargraf, 2007:675–718.
- White EK. Risk-based cleaning validation in biopharmaceutical API manufacturing. *BioPharm* 2005; 1 November.
- Forsyth RJ. Visible-residue limit for cleaning validation and its potential application in a pharmaceutical research facility. *Pharmaceut Technol* 2004; 28 (1 October).
- Forsyth RJ. Using visible residue limits for introducing new compounds into a pharmaceutical research facility. *Pharmaceut Technol* 2005; 29 (2 April).
- Forsyth RJ. Application of visible-residue limit for cleaning validation. *Pharmaceut Technol* 2005; 29 (2 October).
- Forsyth RJ. A single adulteration limit for cleaning validation in a pharmaceutical pilot-plant environment. *Pharmaceut Technol* 2007; 31 (1 January).
- Forsyth RJ. Establishing and executing cleaning validation in a risk-based environment. Presentation at the AAPS Annual Meeting, San Diego, CA, 12 November 2007.
- Forsyth RJ. Materials of construction based on recovery data for cleaning validation. *Pharmaceut Technol* 2007; 31 (2 October).
- Forsyth RJ. Equipment-hold time for cleaning validation. *Pharmaceut Technol* 2008; 32 (1 April).
- Forsyth RJ. Ruggedness of visible residue limits for cleaning validation. *Pharmaceut Technol* 2009; 33 (2 March).
- Altria KD, Dufton AM, Carleysmith SW. Learning from Lean Sigma. *Pharmaceut Technol Europe* 2009; 21(2).
- Greb E. Lean manufacturing begins with efficient material handling. *Pharmaceut Technol* 2008; 32 (16 April).
- European Commission. Final version of Annex 17 to the EU guide to good manufacturing practice. Brussels, Belgium: European Commission, July 2001.
- Kroes R, Kleiner J, Renwick A. The threshold of toxicological concern concept in risk assessment. *Toxicol Sci* 2005; 86:226–230.
- Barlow S. Threshold of toxicological concern (TTC): a tool for assessing substances of unknown toxicity present at low levels in the diet. ILSI Europe Concise Monograph Series, Brussels, Belgium: ILSI, 2005.
- European Medicines Agency. Guideline on the limits of genotoxic impurities. EMEA/CHMP/QWP/251344/2006. London, UK: EMEA, 28 June 2006.
- International Conference of Harmonization. ICH Q3A (R2). Impurities in new drug substances. Geneva, Switzerland: ICH, 25 October 2006.
- International Conference of Harmonization. ICH Q3B (R2). Impurities in new drug products. Geneva, Switzerland: ICH, 2 June 2006.
- International Conference of Harmonization. ICH Q3C (R3). Impurities: guidelines for residual solvents. Geneva, Switzerland: ICH, November 2005.
- Dolan DG, et al. Application of the threshold of toxicological concern concept to pharmaceutical manufacturing operations. *Regulat Toxicol Pharmacol* 2005; 43:1–9.
- Forsyth RJ, Leblanc A, Voaden M. A single adulteration limit for cleaning validation in a pharmaceutical pilot-plant environment. *Pharmaceut Technol* 2007; 31:74–83.
- LeBlanc DA. Applicability of the threshold of toxicological concern concept to residue limits for cleaning validation. Cleaning validation technologies. *Am Pharmaceut Rev* 2008; 11:93–97.
- Kroes, et al. Structure-based thresholds of toxicological concern (TTC): guidance for application to substances present at low levels in the diet. *Food Chem Toxicol* 2004; 42:65–83.

Submission Confirmation

[Print](#)

Thank you for your submission

Submitted to Journal of AOAC INTERNATIONAL

Manuscript ID 15-0219

Title Risk management for the analytical cleaning validation of a multipurpose pilot plant having quetiapine fumarate as tracer drug

Authors Rezquellah, Wafae
Perez-Lozano, Pilar
Escolano, Carmen
Martínez-Viñas, Maria
Suñé-Negre, Josep
Ticó, Josep
Miñarro, Montse
García-Montoya, Encarna

Date Submitted 16-Sep-2015

[Author Dashboard](#)



Fundación
General
Universidad
Complutense
Madrid

X Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica

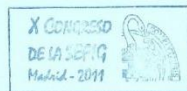
Madrid, 2, 3 y 4 de febrero de 2011



EL COMITÉ CIENTÍFICO CERTIFICA QUE SE HA PRESENTADO UNA
COMUNICACIÓN, EN FORMA DE PÓSTER TITULADA:

**“VALIDACIÓN DE LA LIMPIEZA DE EQUIPOS DE FABRICACIÓN EN
UNA PLANTA PILOTO UNIVERSITARIA.”**

CUYOS AUTORES SON: W. Rezquellah, E. García Montoya, P. Pérez Lozano, J.
María Suñé Negre, M. Miñarro Carmona, J.R. Tico Grau.



Fdo.: Rocío Herrero Vanrell
Presidenta del Comité
Científico



**XI Congreso de la Sociedad
Española de Farmacia
Industrial y Galénica:
SEFIG 2013**



El comité científico del XI Congreso de la Sociedad Española de Farmacia Industrial y Galénica, celebrado en Alicante del 6 al 8 de febrero de 2013,

CERTIFICA QUE

W. Rezquellah, E. García-Montoya, P. Pérez-Lozano, A. Fábregas, C. Carrillo,
J.M. Suñé -Negre, J.R. Ticó, M. Miñarro

han presentado el poster titulado :

**APLICACIÓN DE LA ICH Q8 A LA VALIDACIÓN DE LIMPIEZA. ESPACIO DE
DISEÑO**

Fdo. Isabel González Álvarez
Presidenta del Comité Científico



35 Symposium AEFI
Barcelona 12-13 mayo 2015

Nuevos horizontes:
Compromiso con la salud



El Comité Científico certifica que:

Wafae Rezkallah, Emilio J. Carrillo Pérez, Encarnación García Montoya, Pilar Pérez Lozano y JM Suñé Negre

han participado en el **35 Symposium de la Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria** celebrado los días 12 y 13 de mayo de 2015 en Barcelona, con el **póster**:

Aplicación de la ICH Q8 e ICH Q9 a la validación de limpieza: establecimiento de una metodología de limpieza aplicable a plantas con cumplimiento de normas GMP

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Pere Berga', written in a cursive style.

Pere Berga

Presidente 35 Symposium AEFI



Asociación Española de
Farmacéuticos de la Industria