



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

---

---

FACULTAD DE FARMACIA

# Validación de limpieza de una línea multi-producto

T E S I S

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN FARMACIA

PRESENTA:

IQ. Carlos Israel Vera Vélez

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Sergio Alcalá Alcalá.

CODIRECTOR DE TESIS:

Mtro. Luis Genis Najera

Cuernavaca, Morelos

2022

## **AGRADECIMIENTOS**

Este trabajo es el resultado de muchos, aunque aparezco como autor, en realidad, no lo hubiera logrado sin ayuda, así que tengo gracias infinitas a todos aquellos que de manera intencional apoyaron al trabajo y también para todos aquellos que aún sin intención fueron aportando a la creación de este trabajo, es como el dicho que dice que en realidad el éxito tiene muchos padres.

Le agradezco a Dios por permitirme una oportunidad como esta, hubo muchos momentos en donde estudiar una Maestría en Farmacia parecía imposible, pero las puertas se fueron abriendo y el camino apareció.

Gracias a Papá y a Mamá, por siempre brindarme oportunidades llenas de amor, por enseñarme del esfuerzo y dedicación, por los momentos de cariño, no sería nada sin ustedes. Los amo.

Gracias a mis hijos, que también son mis más grandes maestros, tuvimos que sacrificar algunas tardes de juego, pero las reemplazamos por unas tardes de ciencia, quiero que sepan que del esfuerzo siempre se pueden esperar los mejores resultados.

Gracias a mis hermanos, Eli y Lalo, por su apoyo, pensar en ustedes siempre me inspira.

Gracias a Renato Pecoraro y Karla Ballesteros, dentro de mi proceso de contratación en Sanofi me animaron a creer que esto era posible y esa primera promesa que les hice cuando decidieron contratarme hoy la estamos cumpliendo.

Gracias a Alfonso Martínez por tu amistad y compañía durante el proceso, por los consejos y las pláticas, seguramente muchas de las cosas que compartimos las guardaré siempre en mi corazón.

Gracias a Lupita, Luisa, Sofi, Wilber, Norma y Gemma, su soporte laboral fue el crucial en estos tiempos, nunca tuve que preocuparme porque las cosas en el trabajo estuvieran bien, porque ustedes siempre hacen que todo esté bien, también gracias por las pláticas en estas donde definimos el mundo y lo que hacemos.

Gracias a Gaby, Alex, Bere y Dany, ustedes sin duda son el futuro de nuestro querido equipo, no puedo esperar a ver lo que van a lograr.

Gracias equipo Sanofi, sin duda este es un gran lugar para colaborar, desde el principio apoyaron el proceso y continúan haciéndolo.

Gracias a Dulce, Miriam, Diana, Apolo, José Juan, que fueron el grupo de amigos que caminamos juntos por esta experiencia. Trabajar y estudiar no fue fácil, pero nuestra comunidad de ánimo y alegría siempre me permitió encontrar fuerza cuando las cosas se pusieron difíciles.

Gracias al Doctor Efrén Hernández por confiar en un grupo de la industria farmacéutica, la primera generación de una ola de profesionales que harán crecer la Farmacia en México.

Gracias a Sergio Alcalá mi director de tesis, mi maestro y amigo, eres un excelente líder, tu consejo sabio y guía fueron una parte fundamental para lograr este objetivo.

Gracias a la UAEM y a su magnífica plantilla de profesores, ustedes están cambiando a la industria Farma en México.



FACULTAD DE FARMACIA

Dirección / Secretaría de Investigación

Jefatura de Posgrado

Guerravaca, Morelos a 8 de septiembre de 2022

Folio: FF/MSI/ CIP /MF/103/2022

**I.Q. CARLOS ISRAEL VERA VÉLEZ**  
**ALUMNO DE MAESTRÍA EN FARMACIA**

**P R E S E N T E**

Por este medio le informo que el Consejo Interno de Posgrado (CIP), en su Sesión Ordinaria del 7 de septiembre de 2022, designó a los siguientes sinodales como integrantes de la Comisión Revisora y Jurado para la tesis titulada **"Validación de limpieza de una línea multiproducto"**:

<b>Sinodal</b>		<b>Adscripción</b>
<b>Presidente</b>	Dr. Efrén Hernández Baltazar	Facultad de Farmacia-UAEM
<b>Secretario</b>	Dra. Adriana Valladares Méndez	Facultad de Farmacia-UAEM
<b>Vocal 1</b>	M. C. Luis Genis Nájera	Sanofi Aventis México
<b>Suplente 1</b>	Dra. Mariana Ortiz Reynoso	UAEMex
<b>Suplente 2</b>	Dr. Sergio Alcalá Alcalá	Facultad de Farmacia-UAEM

Se le solicita entregar el manuscrito de tesis para revisión a esta comisión y dar fluidez a los trámites como se indica en el manual de procedimientos.

**Nota (Art. 74 RGEP-UAEM):** Los sinodales tendrán un plazo máximo de 20 días hábiles contados a partir de la recepción del documento para entregar los comentarios de la revisión y para emitir un voto aprobatorio o negatorio. En caso de condicionarse el voto a la entrega de un documento en el que el tesisista deberá solventar lo revisado, este contará con un plazo no mayor a 20 días hábiles, contados a partir de la notificación del primer dictamen emitido, para integrar las correcciones señaladas, una vez vencido dicho plazo el sinodal emitirá el voto aprobatorio o negatorio que corresponda.

Sin otro particular por el momento, reciba un cordial saludo.

Atentamente  
**Por una humanidad culta**  
*Una universidad de excelencia*

**Dr. Sergio Alcalá Alcalá**  
 Jefe del Posgrado en Farmacia

ccp: archivo

Dr. Efrén Hernández Baltazar; Dra. Adriana Valladares Méndez; M. C. Luis Genis Nájera; Dra. Mariana Ortiz Reynoso; Dr. Sergio Alcalá Alcalá



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha:2022-09-08 12:16:56 | Firmante  
J2mkbu49XGYS7Qm004g0vE5GCROH3V6vS0MGLA0g09hdnuPEAJCgClp5N0ZjyhwCu6QZppL7sB4qLTgE0FVvYVMHm5u4ytw73L3zWUoCYyCU00T0UaF4W60e+T  
sRQc38844W6SLedagpKfJwrbFUpMmhMWH0NCupFobVt+Y2vX0V7G8oeFr+DNkDBLWlgT6d0Pjg8kxpmMx0q8N8MeyVP3v96UqA0X05A0C0Z0p0X08UJ  
MSTv0C0eAeR0T0G0ed1dY0dEwM00VLP0p0hLTg0R3LJUN00Faa0F0G0z0FR0ac0A0M0vew

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



CvLpD8ddj

<https://ufirma.uaem.mx/nc/Reporte/VXUJvbiITaDvrlMk0nylnH1NqBkQc>



## ÍNDICE GENERAL

<b>ÍNDICE DE FIGURAS .....</b>	<b>3</b>
<b>ÍNDICE DE TABLAS .....</b>	<b>4</b>
<b>1. INTRODUCCIÓN.....</b>	<b>5</b>
<b>2. MARCO TEÓRICO.....</b>	<b>9</b>
<b>2.1 VALIDACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA.....</b>	<b>9</b>
2.1.1 Plan Maestro de Validación .....	13
<b>2.2 VALIDACIÓN DE LIMPIEZA .....</b>	<b>15</b>
2.2.1 Ejecución de la validación de limpieza .....	18
2.2.2 Definición de “Peor Caso” .....	24
2.2.3 Establecimiento de límites aceptables .....	28
2.2.4 Métodos de muestreo .....	39
2.2.5 Mantenimiento del estado validado.....	40
<b>2.3 LIMPIEZA .....</b>	<b>42</b>
2.3.1 Principios fisicoquímicos de la limpieza – detergencia.....	42
2.3.2 La limpieza en la Industria Farmacéutica – métodos y materiales.....	45
<b>3. ANTECEDENTES .....</b>	<b>46</b>
<b>3.1 Indicios de contaminación cruzada en áreas multiproducto.....</b>	<b>46</b>
<b>3.2 Evolución en la regulación sanitaria respecto a la validación de limpieza en el mundo.....</b>	<b>47</b>
<b>3.3 Estudios de validación en líneas multiproducto.....</b>	<b>53</b>
<b>4. JUSTIFICACIÓN .....</b>	<b>55</b>
<b>5. HIPÓTESIS .....</b>	<b>56</b>
<b>6. OBJETIVOS .....</b>	<b>57</b>
<b>6.1 General .....</b>	<b>57</b>
<b>6.2 Objetivos Particulares .....</b>	<b>57</b>
<b>7. MATERIALES Y EQUIPO.....</b>	<b>58</b>
<b>8. METODOLOGÍA .....</b>	<b>68</b>
<b>8.1 Definición de la línea multi-producto y del Peor Caso.....</b>	<b>68</b>
<b>8.2 Cálculo de los límites máximos permitidos para el peor caso.....</b>	<b>70</b>
8.2.1 Metodología para realizar el muestreo.....	78
<b>8.3 Ejecución del proceso de limpieza; verificación de parámetros y toma de muestras.....</b>	<b>91</b>
<b>8.4 Análisis de Resultados.....</b>	<b>83</b>

<b>9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>83</b>
<b>10. CONCLUSIONES .....</b>	<b>121</b>
<b>11. REFERENCIAS .....</b>	<b>122</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Diagrama del área de granulación húmeda III. ....	8
Figura 2. Proceso/procedimiento base para la validación de limpieza en líneas multiproducto. ....	53
Figura 3. Puntos de muestreo de Mezclador Gea PMA800 y Molino Quadro Comil. ....	75
Figura 4. Puntos de muestreo de Secador Aeromatic T/SG6.....	76
Figura 5. TOC Equipos.....	85
Figura 6. Gráficas de residuos para Resultados TOC.....	86
Figura 7. Aálisis de las observaciones. ....	87
Figura 8. ICs simultáneos de 95% de Tukey. ....	88
Figura 9. Gráfica de intervalos de Resultado TOC vs. Muestra.....	88
Figura 10. Gráfica de caja de resultado TOC. ....	89
Figura 11. Gráfica TOC sección ML09.....	91
Figura 12. ANOVA. ....	92
Figura 13. ICs simultáneos de 95% de Tukey.....	93
Figura 14. Gráfica TOC sección ML09.....	93
Figura 15. Gráfica de intervalos de TOC3 vs. Muestreo3.....	94
Figura 16. Gráfica de TOC sección ML08. ....	96
Figura 17. ANOVA. ....	97
Figura 18. ICs simultáneos de 95% de Tukey.....	98
Figura 19. Gráfica TOC sección ML08.....	99
Figura 20. Gráfica de intervalos de TOC1 vs Muestreo1.....	100
Figura 21. Gráfica TOC sección secador.....	102
Figura 22. ANOVA. ....	103
Figura 23. ICs simultáneos de 95% de Tukey. ....	104
Figura 24. Gráfico de cajas y bigotes sección secador.....	105
Figura 25. Gráfica de Intervalos de TOC2 vs Muetsreo2.....	106
Figura 26. TOC sección mangueras. ....	107
Figura 27. ANOVA.....	108
Figura 28. Gráfica de cajas y bigotes mangueras. ....	109
Figura 29. Gráficas de residuos para TOC4.....	110
Figura 30. ANOVA. ....	111
Figura 31. ICs simultáneos de 95% de Tukey.....	112



Figura 32. Gráfica de intervalos TOC4 vs Muetsreo4. ....	112
Figura 33. TOC sección área. ....	114
Figura 34. Gráfica de cajas de TOC5. ....	115
Figura 35. ANOVA. ....	116
Figura 36. ICs simultáneos de 95% de Tukey. ....	117
Figura 37. Gráfico Conductividad equipos. ....	118
Figura 38. Gráfica de caja pH10. ....	119

## ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Productos que desarrollan en el área de manufactura multiproducto. ....	7
Tabla 2. Ponderación con base a definición de clase OEB. ....	25
Tabla 3. Ponderación con base en solubilidad. ....	26
Tabla 4. Ponderación con base en dificultad de limpieza. ....	26
Tabla 5. Ponderación por dificultad de limpieza. ....	27
Tabla 6. Correspondencia de banda de exposición operacional contra Límite de exposición operacional. ....	35
Tabla 7. Comparativo de límites en superficies: FLAGYL COMPRIMIDOS 500mg. ....	36
Tabla 8. Condiciones cromatográficas para trazas de API: ....	62
Tabla 9. Características del producto y estructura química (Granulación Húmeda 3). ....	69
Tabla 10. Análisis de Trazas de Activos 1. ....	71
Tabla 11. Análisis de Trazas de Activos 2. ....	72
Tabla 12. Análisis de Trazas de Activos 3. ....	72
Tabla 13. Plan de muestreo. ....	75
Tabla 14. Parámetros registrados durante el ejercicio de validación. ....	77
Tabla 15. TOC. ....	83
Tabla 16. Conductividad, PH y formación de espuma. ....	84
Tabla 17. Trazas de activo y detergente. ....	84
Tabla 18. Resultados microbiológicos. ....	85
Tabla 19. Resumen de variación. ....	91
Tabla 20. Resultado de los análisis. ....	91
Tabla 21. Equipos referentes a sección ML08. ....	96
Tabla 22. Equipo secador TSG. ....	102
Tabla 23. Mangueras. ....	108
Tabla 24. Áreas. ....	109

## 1. INTRODUCCIÓN

Existen una gran cantidad de fábricas o laboratorios farmacéuticos multiproducto en el mundo. Los laboratorios farmacéuticos multiproducto están dedicados a la manufactura de medicamentos de más de un producto farmacéutico en un mismo equipo o área, que en el mejor de los casos son medicamentos de un mismo grupo terapéutico, lo que por ende representa un riesgo de contaminación cruzada, o bien, la acumulación de polvo o suciedad del entorno, la cual podría provocar una contaminación extendida otras áreas productivas por movilidad de materiales, formatos, piezas metálicas, instrumentos o personal. Esto se debe a que las líneas de fabricación se encuentran en contacto con más de un principio activo y también porque están expuestas a las condiciones del entorno. Si no se toman medidas adecuadas de limpieza en las líneas de producción para este tipo de laboratorios, existe el riesgo de que la seguridad de un producto farmacéutico se pueda ver comprometida, pues el medicamento pudiera contaminarse con trazas de otros ingredientes farmacéuticos activos u otros polvos, lo que podría llevar a un proceso de inestabilidad física y/o química por efecto de incompatibilidad, y en el peor de los casos, causar un problema de seguridad en los usuarios de los medicamentos con reacciones adversas o efectos no deseados, o incluso eventos toxicológicos.

Históricamente, diferentes ministerios de salud como la FDA (Food and Drug Administration, por sus siglas en inglés) han encontrado contaminaciones graves debidas a prácticas inadecuadas de limpieza y de mantenimiento de equipos, así como, sistemas inadecuados para mantener el control de polvos. A partir de estas experiencias se han generado diferentes lineamientos y guías para establecer límites permisibles en áreas y equipos que se han liberado como espacios limpios después de llevar a cabo los métodos de limpieza que cada empresa ha definido. (World Health Organization: Quality Assurance Of Pharmaceuticals, Sección 12, 2007)

El requisito de que los equipos de manufactura de medicamentos deban estar limpios antes de utilizarse, no es algo nuevo, la FDA (Food and Drug Administration), en la regulación de las

GMP de 1963, incluyó el siguiente apartado *"133.4: Los equipos deben mantenerse limpios y ordenados"*, posteriormente en la regulación GMP de 1978 una sección similar se incluyó el apartado *"211.67: El equipo y sus utensilios deben limpiarse, mantenerse y sanitizarse y/o esterilizarse conforme a la naturaleza del producto en intervalos apropiados para prevenir algún mal funcionamiento o contaminación que pudiera alterar la seguridad, identidad, potencia, calidad o pureza del medicamento fuera de los requerimientos oficiales u otros establecidos."* (FDA; Code of Federal Regulations Title 21; numeral 211.67, 2022)

Así, las medidas para prevenir la contaminación cruzada deben ser conmensuradas con los riesgos de calidad asociados. Dependiendo del nivel de riesgo de los activos manejados por los equipos y accesorios, un solo enfoque de limpieza pudiera ser incorrecto y puede ser requerido dedicar los equipos, líneas o instalaciones a las operaciones de manufactura o empaque de un producto específico, lo que no es rentable en muchos de los casos para el sector industrial. Sin embargo, de acuerdo con la regulación actual, existen casos en los que se requiere que las instalaciones sean dedicadas, por ejemplo cuando un producto presenta riesgos y estos no pueden ser controlados por medidas operacionales o técnicas, cuando los datos de evaluaciones toxicológicas no permiten soportar que el riesgo es controlable (ejemplo: materiales con alta actividad alérgica como las penicilinas o betalactámicos), o cuando los límites de residuos relevantes, derivados de una evaluación toxicológica no pueden ser determinados por un método analítico validado.

Considerando todos los elementos anteriores, es importante tomar en cuenta todos los factores que rodean el ambiente de manufactura, el patrón de aire de material particulado, polvos, lubricantes, residuos de productos, residuos de descomposición, agentes de limpieza, microorganismos, endotoxinas, así como las interfases del operador; todos estos factores deberán ser controlados a través de procesos adecuados de limpieza.

La preocupación fundamental de las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) es asegurar que los medicamentos cumplen con los valores de pureza, seguridad y eficacia, protegiendo así el

bienestar de los pacientes que los consumen. Los procesos de limpieza forman parte de las BPF y son esenciales en la rutina de la manufactura de los medicamentos, pues la limpieza de los equipos previo a su uso permite prevenir la contaminación o adulteración de los productos farmacéuticos que en ellos se procesan. Es así como los métodos de limpieza dentro de la industria farmacéutica se vuelven críticos, y deben validarse para garantizar que son reproducibles y eficientes.

Asegurar la limpieza de los equipos y áreas de fabricación, así como la consistencia y reproducibilidad de la limpieza, también es de carácter normativo. Las autoridades de salud de los diferentes países han establecido leyes, reglamentos o normas que deben cumplirse a fin de garantizar que la limpieza se ejecuta en niveles adecuados.

En el presente trabajo se llevó a cabo la validación del método de limpieza de un área de producción farmacéutica multiproducto llamada "GH3", a través de retar y ejecutar un protocolo robusto de validación. Los equipos de manufactura involucrados en el área son un granulador y un secador de lecho fluido, así como equipos móviles; marmita, Aeromatic Fielder®, Coniwitt® y Frewitt®. Asimismo, de manera adyacente existe un área de lavado y otra de secado. Esta área se utiliza para la granulación de diferentes principios activos, se manejan 6 principios activos, que se transforman posteriormente en 9 productos debido a las diferentes dosis que se fabrican para algunos de ellos. En la **tabla 1** se muestran los productos que se fabrican, los niveles de producción y los efectos no deseados asociados a estos.

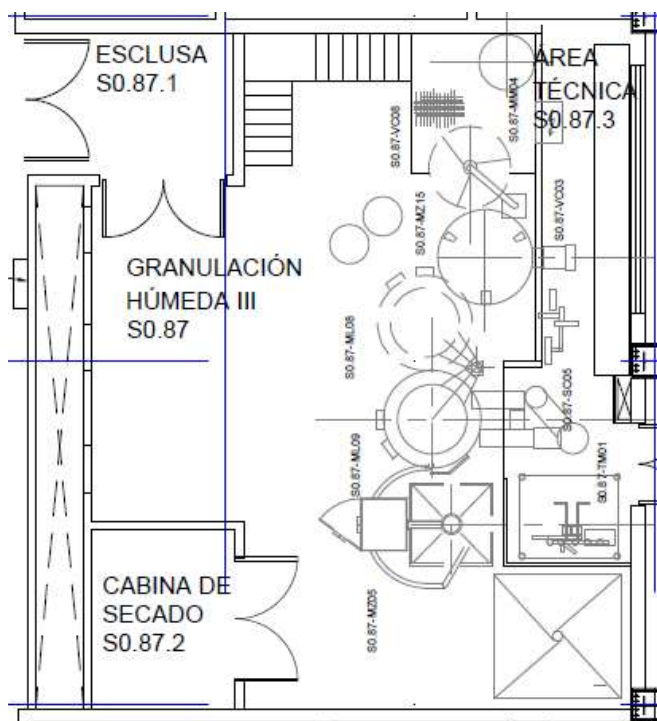
**Tabla 1.** Productos que desarrollan en el área de manufactura multiproducto.

Producto (Concentración)	Principio Activo	Características OEB: Banda de Exposición Ocupacional	Efectos no deseados asociados, entre otras cosas, a la contaminación cruzada
--------------------------	------------------	--	--

		OEL: Límites de Exposición Ocupacional PDE: Exposición Diaria Permitida	
Flagyl (250 y 500 mg)	Metronidazol	Anitiparasitario del grupo de los nitroimidazoles. (OEB4 & OEL 3µg/m <sup>3</sup> ) PDE = 30 µg/día	Naúsea, diarrea, hipersensibilidad, dolor de cabeza, mareo, vómito, glositis, estomatitis, parestesia, orina con coloración oscura. En dosis elevadas lengua negra, leucopenia, neuropatía periférica o toxicidad del sistema nervioso central.
Tabalón (400 mg)	Ibuprofeno	Antiinflamatorio no esteroideo. (OEB 2 & OEL 500 µg/m <sup>3</sup> ) PDE = 5000 µg/día	Dolor abdominal, náuseas, vómitos, somnolencias, mareos, dolor de cabeza, zumbido de oídos y nistagmo.
Aciclovir (400 mg)	Aciclovir	Antiviral derivado de la guanosina para el tratamiento de infecciones producidas por el virus varicela-zoster y el virus de herpes simple. (OEB 2 & OEL 150µg/m <sup>3</sup> ) PDE = 1500 µg/día	Cefalea, mareos; náuseas, vómitos, diarrea, dolor abdominal; púrpura, erupciones cutáneas (incluyendo fotosensibilidad); fatiga, fiebre; flebitis
Aprovasc (300/10; 300/5; 150/10; 150/5 mg)	Irbesartán/ Amlodipino	Irbesartán Antihipertensivo proveniente de OTBN (4-metil-2-cianobifenil) (OEB 3 & OEL 15 µg/m <sup>3</sup> ) PDE = 150 µg/día	Mareo; náuseas/vomito; fatiga; hipotension ortostática; dolor musculoesquelético; hipercalemia; trombocitopenia
		Amlodipino Antihipertensivo perteneciente al grupo de las dihipirinas (OEB 3 & OEL 100 µg/m <sup>3</sup> ) PDE = 1000 µg/día	Cefalea, somnolencia, mareo; debilidad; palpitaciones; rubefacción; náuseas; dolor abdominal; hinchazón de tobillos; edema
Secnidol (500 mg)	Secnidazol	Antiparasitario de la serie de los nitroimidazoles. (OEB 3 & OEL 10 µg/m <sup>3</sup> ) PDE = 100 µg/día	Trastornos digestivos como náuseas, gastralgias; modificación del gusto, glositis, estomatitis; urticaria; leucopenia moderada y erupciones cutáneas reversibles.

Adicionalmente el área de granulación cuenta con la disposición y equipos referidos en la figura 1.

Figura 1. Diagrama del área de granulación húmeda III.



Código	Nombre del equipo
MZ05	GRANULADOR AEROMATIC PMA800
ML09	MOLINO FREWITT CONIWITT-250
ML08	MOLINO QUADRO COMIL U20
MZ15	MEZCLADOR HOBART M-802
VC03	TRANSPORTADOR DE VACÍO PIABB 1 DESCARGA
MM04	MARMITA POLINOX 50L
SO05	SECADOR LECHO FLUIDO NIRO AEROMATIC TSG6
TM01	TAMIZADOR VIBRADOR RUSSELL GHIII

## 2. MARCO TEÓRICO

### 2.1 VALIDACIÓN EN LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

La validación es uno de los componentes esenciales de los sistemas de calidad de las Buenas Prácticas de Fabricación de la industria farmacéutica, su función es establecer evidencia documentada, a través de la recopilación y evaluación científica de los datos obtenidos en las pruebas de calificación y pruebas de desempeño para equipos, método y procesos que se ejecutarán a lo largo del ciclo de vida del producto, que demuestre la funcionalidad, consistencia y robustez de un proceso, para garantizar la entrega de un producto de calidad que consistentemente cumplirá con las características de calidad predeterminadas. (NOM-059-SSA1-2015 Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos, numeral: 3.123, 2016)

La validación se ejecuta a lo largo del ciclo de vida del proceso que se trate, porque la variabilidad es una característica intrínseca; conocer esta variabilidad, controlarla y analizar su impacto en la calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos conduce a la mejora continua.

La validación farmacéutica con respecto a la liberación de producto para su comercialización, acepta dos tipos de validación, teniendo los siguientes tipos: (NOM-059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numerales: 3.125 y 3.66, 2016)

- a) **Enfoque Prospectivo:** cuando debe planearse y concluirse antes de proceder a la decisión de liberación de los lotes de productos involucrados.
- b) **Liberación Concurrente:** cuando se ejecuta lote a lote, paralelo al proceso y la liberación de estos, tan pronto como cada corrida ha concluido. El ejercicio de validación se da por concluido cuando todas las corridas planteadas en la estrategia de validación han sido ejecutadas y el reporte se aprueba, en caso de que alguna de las corridas falle, el impacto de calidad de los lotes previamente liberados debe ser evaluado, esta aproximación es utilizada en casos donde la manufactura de productos es poco frecuente.

Adicionalmente, una vez que el proceso ha sido validado de manera inicial y siguiendo el concepto de que la validación acompaña el ciclo de vida del producto, existe: (EudraLex Volume 4 - Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines; Capítulos: 1; 1.8, 2011)

- a) **Revalidación:** Es el ejercicio de verificar como los cambios en el proceso y el conocimiento actual pudieran haber afectado el estado de validación que se ha llevado a cabo con anterioridad, de tal forma que se pueda garantizar la robustez del proceso a lo largo de su ciclo de vida.
- b) **Verificación continua:** Este es un ejercicio que se ejecuta una vez al año en el peor caso definido con el objetivo de comprobar que los parámetros de limpieza continúan siendo vigentes.

La validación es el último paso para garantizar la robustez del proceso farmacéutico y requiere de un tránsito previo por cuatro fases iniciales que son: la calificación de diseño (CDi), calificación de la instalación (CI), calificación de la operación (CO), y la calificación del desempeño (CD), que para algunos equipos, métodos y procesos esta última refiere a la validación del proceso. Estas etapas consideran las siguientes actividades: (NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numerales: 3.28; 3.29; 3.30 y 9.9.2.2.2), 2016)

- a) **Calificación de Diseño:** corresponde a la evidencia documentada que demuestra que las instalaciones, sistemas y equipos fueron diseñados para cumplir las características requeridas para el uso intencionado que se busca. Normalmente para limpieza los requisitos de instalaciones y equipos se establecen en que las superficies en interacción con los principios activos deberán ser superficies lisas, fáciles de limpiar, que no presenten interacciones con los fármacos, excipientes o bien los agentes de limpieza. El tipo de materiales preferidos para equipos son aceros inoxidable grado 316 L con acabado espejo, piezas de teflón, nylamid y otros materiales que se consideran inertes. En el caso de instalaciones los acabados preferidos son lisos y normalmente expóxicos, pues estos están probados para garantizar la facilidad de limpieza. Por otro lado, los sistemas se relacionan más con el tipo de agua que se utilizará para los ejercicios de limpieza, normalmente el agua utilizada es purificada que tiene control fisicoquímico para pH, conductividad y carbón orgánico total; control microbiológico que garantiza la ausencia de organismos indicadores y baja cuenta total de microorganismos (bacterias y hongos). En el caso de medicamentos inyectables siempre se solicitará que el último tratamiento sea con agua para la fabricación de inyectables para eliminar los riesgos de endotoxinas. En esta fase de diseño también se definiría el procedimiento de limpieza y los parámetros que se van a controlar, por ejemplo, la concentración de los agentes de limpieza, los utensilios de limpieza y el método a ejecutar, que posteriormente será retado.



- b) **Calificación de Instalación:** a la evidencia documentada de que las instalaciones, los sistemas y equipos fueron instalados de manera adecuada y cumplen los requisitos y especificaciones para el propósito proyectado, para propósitos de limpieza, normalmente se buscará comprobar mediante certificados o pruebas la procedencia de los materiales de los equipos, en las instalaciones, se verificará que las superficies no sean rugosas, que los acabados sean adecuados y no permitan la acumulación de polvo u otros materiales del proceso. Los sistemas deberán cumplir con los requisitos de las especificaciones establecidas en la regulación.
- c) **Calificación de Operación:** a la evidencia documentada que demuestre que las instalaciones, sistemas y equipos operan consistentemente, de acuerdo con las especificaciones de diseño establecidas. Para la validación de limpieza es válido verificar que cuando se trata de equipos con rutinas de limpieza preprogramadas, estas se ejecutan conforme se encuentran descritas. También se evalúa que las alarmas de los equipos funcionan de manera adecuada para alertar condiciones atípicas durante el proceso de lavado. La mayoría de los equipos se encuentran programados para terminar los procesos de limpieza cuando se alcanzan niveles de conductividad equivalentes a los de agua purificada o inyectable, pues en este punto se garantiza que se han eliminado las potenciales trazas de jabón. En el caso de instalaciones o procesos de lavado manuales, los criterios de operación se relacionan más con que el proceso descrito en el procedimiento puede seguirse sin problemas; normalmente estos ejercicios se dan por operación mecánica y se busca retar que esta operación es lo más consistente posible.
- d) **Calificación de Desempeño:** a la evidencia documentada de que las instalaciones, sistemas y equipos se desempeñan cumpliendo los criterios de aceptación previamente establecidos. Se busca garantizar en corridas de manufactura reales, que los procesos de limpieza son efectivos, los criterios de evaluación pueden ser: visualmente limpio,

ausencia de trazas de activo a cierto nivel, ausencia de trazas de detergente y ausencia de microorganismos.

Por otra parte, la documentación de la validación es una parte fundamental, ya que la validación implica elaborar una evidencia documentada de la calidad de los productos fabricados o del desempeño de los procesos. El documento clave de la validación es el Protocolo de Validación, el cual es un plan escrito que establece como debe de realizarse el estudio de validación, en él se especifica el alcance de la validación, las áreas involucradas y sus responsabilidades asociadas, las metodologías a aplicar y las especificaciones o criterios de aceptación para cada parámetro a medir o evaluar. Además, con base en este se prepara un informe técnico con los resultados de su ejecución, que formará parte del reporte general de la validación. La validación adicionalmente se reconoce no como un evento puntual, sino relacionado al ciclo de vida de los productos.

### **2.1.1 Plan Maestro de Validación**

Los elementos claves del programa de validación serán claramente definidos y documentados en un Plan Maestro de Validación (PMV), el cual es el documento que da las directrices y estrategias para desarrollar las actividades de validación; incluye programas, usuarios y personal responsable para alcanzar una mejor comprensión de los requisitos de validación de la compañía. En este documento se deberán incluir y describir las etapas que deben seguirse para realizar la validación de limpieza. (NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numeral: 3.88, 2016)

Los procesos farmacéuticos que, de acuerdo con la regulación actual nacional e internacional, deben someterse a actividades de validación y que se integran al PMV son los siguientes:

- Validación de métodos analíticos.
- Validación de métodos microbiológicos.
- Calificación de equipos de laboratorio.

- Validación de sistemas de cómputo.
- Calificación/ Validación de equipos, instalaciones y sistemas críticos (servicios).
- Validación de procesos.
- Validación de limpieza.
- Validación de transporte.
- Actividades de Recalificación/ Revalidación.

Normalmente las actividades contenidas en el PMV contienen o establecen los siguientes lineamientos:

1. Cada proceso de fabricación, acondicionamiento, limpieza, método analítico, equipo, instalación, sistema crítico y/o sistema computarizado con impacto directo en la calidad del producto debe ser calificado y/o validado.
2. El responsable sanitario o director técnico de calidad, es el encargado de aprobar todos los procedimientos que conforman el sistema de Calificación y Validación del Sitio de Manufactura, así como los planes de Calificación y Validación, los protocolos y reportes de aceptación final.
3. Las actividades de Calificación y Validación deben conducirse por un grupo multidisciplinario, en colaboración principalmente con las áreas de producción, responsables de áreas y equipos, desarrollo (expertos en métodos analíticos), microbiología (como experto de los métodos microbiológicos), ingeniería (como especialista de los servicios o sistemas críticos), sistemas informáticos (por los softwares y plcs de algunos equipos con limpieza automática) y aseguramiento de calidad (como experto de la normativa aplicable y en el enfoque de calidad basado en un análisis de riesgo).

4. Todas las calificaciones/ validaciones deben ejecutarse conforme a los procedimientos normalizados de operación aplicables en el sitio. Esto se refiere a que debe definirse primero el lineamiento operativo de cada proceso antes de iniciar con estas actividades.
5. Generarse anualmente y revisarse mensualmente para describir la estrategia, los programas y el estatus actual que guardan todos los elementos que fueron incluidos. Normalmente la revisión del plan se ejecuta en un comité multidisciplinario conocido como Comité de Validación.
6. Cada elemento que ha sido calificado o validado estará sujeto siempre al proceso de re-calificación, revalidación o revisión periódica.
7. Todas las calificaciones y/o validaciones deben conducirse de acuerdo con planes y/o protocolos pre-aprobados. La calificación y/o validación se considera completa hasta que se cuenta con un reporte final aprobado.
8. El nivel de calificación y/o validación requerida debe estar basado en análisis de riesgo.
9. Todo el personal involucrado en actividades de Calificación y/o Validación debe tener el entrenamiento apropiado.

## **2.2 VALIDACIÓN DE LIMPIEZA**

Por su parte, la validación de limpieza es la evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza puede realizarse en un área de manufactura o empaque de manera efectiva y reproducible, bajo el procedimiento(s) establecidos y cumpliendo con los criterios de aceptación de limpieza previamente establecidos. Esta evidencia documental debe incluir y garantizar que se ha limpiado un sistema o una pieza de algún equipo hasta los límites

aceptables y predeterminados. (NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numeral: 3.124, 2016)

Todo lo anterior se realiza para verificar la eficacia de los procedimientos de limpieza y asegurar que no existen riesgos asociados con la contaminación cruzada de los ingredientes activos, detergentes o desinfectantes en el equipo, piezas o áreas.

La FDA no ha ahondado en metodologías usadas para establecer los límites de los residuos, sin embargo, si refiere algunos criterios que se han utilizado tradicionalmente en la industria como el de dosis terapéutica para APIs (ejemplo: 1/1000, donde indica que un límite adecuado es la milésima parte de lo que se define como la dosis terapéutica mínima) o menor a 10 ppm (partes por millón), como lo establece la guía: "Inspection References: Guide to inspections validation of cleaning processes." Otros documentos relevantes son el 21 CFR 211.67, que es la referencia inicial sobre validación de limpieza. (FDA; Code of Federal Regulations Title 21; numeral 211.67, 2022) y el reporte Técnico número 29 de Parenteral Drug Association (PDA):

## Acceptance Limits for APIs

Approach	Approach Typically Applicable To
1/10 <sup>th</sup> to 1/100 <sup>th</sup> of a normal daily dose	topical products
1/100 <sup>th</sup> to 1/1,000 <sup>th</sup> of a normal daily dose	oral products
1/1,000 <sup>th</sup> to 1/10,000 <sup>th</sup> of a normal daily dose	injections, ophthalmic products
1/10,000 <sup>th</sup> to 1/100,000 <sup>th</sup> of a normal daily dose	research, investigational products

Table D. PDA's Technical Report No. 29 in Section 8.5 "The Basis for Quantitative Limits."

Drug Compound	Drug Type/ Adverse Effects	Lowest Therapeutic Dose	1/1,000 <sup>th</sup> of Therapeutic Dose
Low dose Aspirin	NSAID/low side effects	81 mg	0.081 mg
Ribavirin	Anti-viral/teratogen	600 mg	0.6 mg
Capecitabine	Chemotherapy/numerous side effects	1150 mg	1.15 mg

Table F. Comparison of 1/1,000<sup>th</sup> limits for low and high risk compounds.

(Pharmaceutical Engineering, 2011): Cleaning Validation for the 21st Century: Acceptance Limits for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs): Part I

En México, la regulación establece la validación de limpieza conforme a la NOM059:

*"Se debe realizar la validación de limpieza con el objetivo de demostrar la efectividad de los procedimientos de limpieza."* La norma oficial mexicana refiere que: (NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numeral: 9.11.2, 2016)

- Los métodos de limpieza deben ser acordes a la naturaleza de los productos.
- Se debe contar con un programa para el uso de sanitizantes, el cual debe incluir un agente esporicida.
- Cuando el método de limpieza incluya procesos de sanitización, esterilización y/o descontaminación, éstos deberán ser validados.
- Las interacciones entre los diferentes agentes sanitizantes deben ser evaluadas y ser incluidas en la validación.
- Se deben utilizar métodos analíticos validados considerando la técnica de muestreo, para detectar trazas de contaminantes, detergentes y/o sanitizantes.
- Se deben validar los procedimientos de limpieza de las superficies que estén en contacto con el producto.
- Si varios productos son procesados en el mismo equipo, y éste utiliza el mismo procedimiento de limpieza, puede usarse un producto representativo para la validación o el criterio del "peor caso" (ver adelante). Esta selección puede estar basada en la

solubilidad y dificultad de limpieza y los cálculos de los límites residuales con base en una combinación de la concentración y toxicidad.

- La validación de limpieza debe realizarse en tres aplicaciones consecutivas del procedimiento de limpieza con resultados satisfactorios.
- La vigencia de la limpieza de los equipos de fabricación, accesorios, utensilios y todas las tuberías debe establecerse con base en los resultados de la validación.
- Se debe establecer un programa periódico para la determinación de trazas de productos incluidos en la validación de limpieza. Esta periodicidad debe establecerse con base en la valoración de riesgo.

Algunos de los conceptos más relevantes de la validación de limpieza son los siguientes: (FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014)

- **Residuos Aceptables:** la postura de la FDA menciona claramente que la contaminación que es razonablemente evitable y removible nunca debe ser considerada aceptable. Los procedimientos de limpieza no deben ser sub-óptimamente diseñados para remover a un nivel "aceptable" de residuos, sino basados en el entendimiento científico de la sustancia y su interacción con otros recursos dentro de la instalación de manufactura. De manera similar los métodos analíticos no deben ser diseñados solamente sobre la base del límite de aceptabilidad de residuo que debe ser alcanzado.
- **Carbón Orgánico Total:** la FDA ha establecido que la técnica analítica conocida como TOC (Total Organic Carbon) es un método aceptable para monitoreo rutinario de residuos y para validación de limpieza siempre que el(los) material(es) sean orgánicos y contengan carbono que pueda ser oxidado para las condiciones de prueba del método. (Capítulo General – USP 43 (643) – Total Organic Carbon)
- **Muestreo de agua de enjuague:** Para validación de limpieza, las muestras de agua de enjuague como elemento único no son aceptables; las firmas deben también medir el residuo o contaminante en la superficie del equipo utilizando un método de verificación directa como isopado (si es factible).

- **Verificación continua de proceso:** Se debe contar con un programa para el monitoreo de residuos de rutina después de concluir la validación de limpieza. La frecuencia del programa debe determinarse con base en análisis y gestión de riesgos.

Conforme a lo anterior, el enfoque principal de los procesos de limpieza que se definan dentro de la industria farmacéutica debe estar orientado a la remoción y control de:

- **Residuos de proceso.** Referente a las trazas remanentes de principios activos posterior a concluir el proceso de fabricación.
- **Agentes de Limpieza.** Referente a tensoactivos o jabones que puedan permanecer en el equipo a partir de procesos de enjuague deficientes dentro del proceso de limpieza.
- **Microorganismos.** Referente a los potenciales contaminantes como polvo u otros agentes. También si los procesos llegaran a utilizar entidades biológicas, se refiere a la remoción.
- **Endotoxinas.** Paredes celulares gram positivo que pudieran provenir por ejemplo del personal u otras fuentes de contaminación microbiológica.

### 2.2.1 Ejecución de la validación de limpieza

Específicamente para la validación de limpieza se deberán establecer procedimientos en suficiente nivel de detalle para garantizar la reproducibilidad y efectividad del proceso de limpieza para remover los principios activos y/o agentes de limpieza, la validación deberá demostrar mediante la definición de retos y colección de evidencias, la robustez y reproducibilidad del proceso.

Todos los métodos analíticos empleados para la identificación de trazas de activo o detergente deberán validarse antes de ejecutar el ejercicio de validación de limpieza. Los protocolos de



validación de limpieza deben contener los métodos y los límites para la identificación de trazas de activos y detergentes, así mismo considerar métodos microbiológicos con la capacidad de detectar microorganismos relevantes.

Los protocolos de validación de limpieza serán específicos por cada línea de fabricación y equipo. Cuando diferentes productos pasan por los mismos equipos de fabricación, se pueden formar grupos y se evalúa el peor caso considerando:

- La toxicidad de principio activo,
- La dificultad para limpiar,
- La solubilidad del activo,
- La semejanza entre los productos,

Esta aproximación permite ejecutar la validación utilizando el peor caso y establecer que para el resto de los productos se encuentra validado, por lo que, si los procedimientos de limpieza son efectivos en el peor caso, lo serán para el resto de los productos.

Conforme a la NOM059 para las actividades de validación, la validación de limpieza se presenta en 3 etapas: (NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numerales: 9.9.2.1; 9.9.2.2 y 9.9.2.3, 2016)

1. La etapa 1 corresponde al diseño del proceso, en esta etapa se deben establecer los métodos que definen al proceso de limpieza, incluye:
  - a) Análisis de los principios científicos del proceso de limpieza.
  - b) Definición y desarrollo del proceso de limpieza: debe diseñarse para reducir los residuos de proceso, los agentes de limpieza, los microorganismos y las endotoxinas a niveles predefinidos. Este proceso mejora al mismo tiempo que se gana experiencia en la manufactura del proceso.
  - c) El desarrollo del proceso de limpieza y los métodos de prueba que deben ejecutarse y documentarse como un pre-requisito a la aprobación del protocolo

de validación de limpieza. En este caso, estos pre-requisitos deben considerar la justificación y aplicación del "peor caso". En ciertas situaciones el desarrollo de los estudios puede apalancarse de datos existentes o con justificaciones técnicas apropiadas, por ejemplo: cambios menores a sistemas previamente validados, adición de miembros a grupos de familias de equipos o compuestos, entre otros.

- d) La estrategia de control del proceso de limpieza y su documentación; qué elementos necesitan ser monitoreados para garantizar la correcta ejecución del proceso de limpieza, la calidad y grados de los materiales, los parámetros y los atributos críticos de calidad.
- e) La elaboración del protocolo de validación que debe desarrollarse, con el conocimiento y establecimiento de lo siguiente:
- Los objetivos del proyecto de validación.
  - La aproximación y la justificación de la validación (matriz de validación, o bien, el número de áreas, equipos y productos involucrados).
  - La selección del grupo (aproximación matricial) dependiendo de la dosis de los productos y el valor PDE (ver 2.2), su solubilidad y la facilidad de limpieza.
  - Las condiciones del peor caso y las justificaciones aplicables.
  - Una descripción del proceso de limpieza (procedimiento de limpieza) que incluya la secuencia de limpieza, su programación y el personal a cargo.
  - Identificación de los parámetros críticos de proceso (CPP), que pueden incluir variables como tiempo de acción, flujo, concentración y temperatura. Adicionalmente se identifican los parámetros de atributos críticos de calidad (CQA), como por ejemplo el valor límite MACO (Maximum Allowed Carry Over por sus siglas en inglés), máximo arrastre permitido (que se refiere a la cantidad de activo que se puede aceptar como arrastre en un proceso independiente),

TOC (Carbón Orgánico Total), conductividad, bioburden (Bioburden o ensayo de carga biológica), endotoxinas, entre otros.

- Plan de muestreo, con los puntos de muestreo indicados.
- La justificación de los puntos de muestreo seleccionados con base a un análisis de riesgo y las técnicas de muestreo.
- Metodología de prueba, por ejemplo, inspección visual (como primer criterio para evaluar la limpieza), hisopado o agua de enjuague.
- Los criterios de aceptación, por ejemplo: visualmente limpio, las especificaciones que se requieren cumplir, y la justificación científica con los métodos de cálculo incluidos.
- Tiempo de espera de equipo sucio. Se refiere al tiempo que se definirá que el equipo puede permanecer impregnado de los activos y excipientes del proceso de fabricación después que ha concluido su uso y evidentemente antes de iniciar con la limpieza.
- Tiempo de espera de equipo limpio. Se refiere al tiempo permitido que el equipo podrá permanecer limpio antes de su uso en proceso.
- La estimación de recuperación de trazas de activo.
- El cálculo total de la superficie de contacto del equipo con el producto.
- La validación de los métodos analíticos.

2. La etapa 2, es la etapa sobre la calificación del proceso, en esta etapa pueden existir 2 enfoques, el concurrente y el prospectivo:

- La NOM059, refiere que la liberación concurrente en esta etapa solo es aceptable en casos de demanda limitada, fechas de expiración corta en los productos involucrados, en casos de emergencia sanitaria, entre otros; la decisión de tomar este enfoque debe ser autorizada por el responsable sanitario y se debe garantizar que los requisitos documentales sean los mismos que para la validación prospectiva.

- Los reportes de no conformidades, eventos o desviaciones generados cuando se utiliza este enfoque son especialmente importantes debido a que la existencia de desviaciones en la segunda o tercera corrida puede tener implicaciones en producto previamente liberado a mercado.

3. La etapa 2 considera los siguientes elementos:

- Verificación sobre el diseño de las instalaciones, equipos y servicios para constatar que se encuentran calificados.
- Desempeño del proceso, en esta etapa se deben retar y confirmar las condiciones en las que se efectuará la limpieza. Es la combinación de todos los elementos previamente definidos, incluye al personal calificado y los procedimientos de limpieza que se hayan definido. En esta etapa deben encontrarse definidos los métodos objetivos de medición del proceso de limpieza, aplicando herramientas estadísticas. En esta etapa se ejecutarán los muestreos y pruebas para garantizar la robustez del proceso. Se busca que el nivel de monitoreo y pruebas sea suficiente para confirmar la uniformidad de los resultados. La validación debe realizarse con lotes con tamaño comercial y tener en consideración la longitud de las campañas (manufactura en serie del mismo producto), empleando al menos tres repeticiones consecutivas, las cuales deben aportar la cantidad suficiente de datos para demostrar que el proceso es capaz, estable y consistente, los lotes adicionalmente pueden ser planeados en campañas, que se refiere a que se ejecuten varios lotes en cada corrida de producción con limpiezas menores de manera intermedia y solo al concluir la corrida con la cantidad consecutiva de lotes que se haya definido, ejecutar la limpieza y el proceso de toma de muestra. Cuando se define este esquema de producción en campaña, la validación de limpieza se ejecuta con 3 corridas de cada una de las campañas. Los lotes utilizados en este tipo de estudios pueden ser comercializados, siempre y cuando se hayan cumplido los

critérios de aceptación establecidos, las conclusiones del reporte sean satisfactorias y las especificaciones de liberación de los lotes involucrados se hayan cumplido.

4. La etapa 3 considera los siguientes elementos:

- Verificación del diseño de las instalaciones, equipos y servicios para constatar que se encuentran calificados.
- Desempeño del proceso, donde se deben retar y confirmar las condiciones en las que se efectuará la limpieza. Es la combinación de todos los elementos previamente definidos, incluye al personal calificado y los procedimientos de limpieza que se hayan definido. En esta etapa deben encontrarse definidos los métodos objetivos de medición del proceso de limpieza, aplicando herramientas estadísticas.
- Aquí se ejecutarán los muestreos y pruebas para garantizar la robustez del proceso. Se busca que el nivel de monitoreo y pruebas sea suficiente para confirmar la uniformidad de los resultados.
- La validación debe realizarse con lotes con tamaño comercial y tener en consideración la longitud de las campañas (manufactura en serie del mismo producto), empleando al menos tres repeticiones consecutivas, las cuales deben aportar la cantidad suficiente de datos para demostrar que el proceso es capaz, estable y consistente. Los lotes adicionalmente pueden ser planeados en campañas, que se refiere a que se ejecuten varios lotes en cada corrida de producción con limpiezas menores de manera intermedia y solo al concluir la corrida con la cantidad consecutiva de lotes que se haya definido, ejecutar la limpieza y el proceso de toma de muestra. Cuando se define este esquema de producción en campaña, la validación de limpieza se ejecuta con 3 corridas de cada una de las campañas. Los lotes utilizados en este tipo de estudios pueden

ser comercializados, siempre y cuando se hayan cumplido los criterios de aceptación establecidos, las conclusiones del reporte sean satisfactorias y las especificaciones de liberación de los lotes involucrados se hayan cumplido.

- Se refiere a poder garantizar de manera continua el estado de control dentro de la manufactura comercial. En esta etapa es necesario tener sistemas de control que permitan identificar la variabilidad del proceso de limpieza, para en caso de ser requerido corregirlo inmediatamente. Los mecanismos de control se definen en los procedimientos que incluyen elementos para la colección de datos y la interpretación de resultados.
- En esta etapa se debe establecer un programa periódico para la determinación de trazas, la periodicidad se establece con base en el análisis de riesgo, donde se valora la frecuencia de producción, la práctica regular en la industria es por lo menos verificar el proceso de limpieza de manera anual. Durante la verificación, se deben utilizar los mismos límites que se definieron para la validación de limpieza durante la etapa 2, esta etapa también requiere contar con métodos, criterios y un protocolo previamente definido y aprobado.
- La verificación de limpieza busca retar el estatus de limpieza del equipo, posterior al último ejercicio de limpieza, proporciona evidencia sobre el estado de control de la validación de limpieza, pero más importante sobre los procedimientos de limpieza.
- El proceso de verificación de limpieza puede aplicarse también en las siguientes situaciones: corridas de producción de una vez. (e.g. Lotes de desarrollo), producción poco frecuente (e.g. ciertos productos que lleguen a manufacturarse una vez al año), principios activos o productos terminados utilizados en investigación clínica (Fase I, II o III), en corridas de desarrollo a escala previos a iniciar la validación de limpieza, como un elemento de soporte

a la investigación de una desviación, validación de limpieza concurrente durante la solución de problemas, en validación por aproximación de grupos de familias de productos no completados para todos los miembros o el peor caso y por último, cuando se excede el tiempo de espera (holding time) de equipo sucio.

### 2.2.2 Definición de “Peor Caso”

Las guías de Validación de Limpieza de la organización mundial de la salud (WHO) son muy similares a las de la FDA y a lo que se especifica en la regulación nacional. El documento “WHO Good Manufacturing practices for active pharmaceutical ingredients (Annex 2)” establece los requerimientos básicos para la validación de limpieza entre los numerales del 5.2 al 12.7, los puntos de mayor relevancia son los siguientes: (WHO Drug Information Volumen 34 Número 2 – Points to consider on the different approaches ; Sección 5, 2020)

- **Establecimiento del Peor Caso:** WHO acepta claramente la aproximación de selección de un API representativo como el “peor caso” para validar los procesos de limpieza.
- **Verificación:** WHO recomienda el monitoreo continuo utilizando métodos como pruebas analíticas y examinación visual. Proporciona una aproximación hacia metodología basadas en riesgo sin proporcionar detalles adicionales.

Un **Peor Caso** se puede definir como el producto que representa el valor de prioridad más alto de una matriz de productos que se construyó comparando criterios convencionales que revelan que el producto presenta las características más retadoras de la matriz.

Los criterios que convencionalmente se toman en cuenta para el establecimiento de un Peor Caso son los siguientes:

- **OEB: (Banda de Exposición Ocupacional)**

Estos valores sólo se toman como referencia y sustento de la validación de limpieza basada en límites tradicionales que serán comparados con los límites de exposición basados en salud (HBEL) para definir el límite más estricto. El HBEL, cuenta con varias fuentes como European Medicines Agency (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, 2015) y la guía de PICS (PICS - Guideline on setting HBEL for use in risk identification in the mfg of different prod in share facilities, 2018)

Las Bandas de Exposición Ocupacional sirven como punto de partida al igual que los OEL (límites de exposición operacional) para calcular los HBEL (Límite de exposición basado en Salud). La tabla 2 indica el efecto esperado en exposición ocupaciona con respecto a la clase OEB.

**Tabla 2.** Ponderación con base a definición de clase OEB.

Puntos	Clase OEB	Definición
1	OEB1	No perjudicial, no irritante y/o con baja actividad farmacológica.
4	OEB2	Perjudicial, puede ser irritante y/o moderada actividad farmacológica.
9	OEB3	Moderadamente tóxico y/o alta actividad farmacológica.
16	OEB4	Tóxico, puede ser corrosivo, sensibilizante o genotóxico y/o muy alta actividad farmacológica.
25	OEB5	Extremadamente tóxico, puede ser corrosivo, sensibilizante o genotóxico y/o extremadamente alta actividad farmacológica.



- **Solubilidad**

Estos valores se determinaron con base en las propiedades de los diferentes principios activos utilizados en el equipo, el objetivo de la tabla es poder tener un criterio que permita separar y ponderar los materiales conforme a sus características, el solvente de referencia para determinar la solubilidad es agua, (la idea base para la generación de la tabla se encuentra en Vesper, James L. Risk Assessment and Risk Management in the Pharmaceutical Industry, pp 176- 179). La consideración base se establece en la tabla 3, descrita a continuación:

**Tabla 3.** Ponderación con base en solubilidad.

Puntos	Clasificación
0	Muy soluble (arriba de 10 mL de solvente/g de activo (fármaco))
3	Soluble & Poco soluble (10-100 mL de solvente/ g de activo (fármaco))
8	Ligeramente soluble – Prácticamente insoluble (>100 mL/g Fármaco)

- **Dificultad de limpieza.**

La habilidad de remover el producto es influida por la solubilidad, por las propiedades y formulación (especialmente en dosificaciones o formas farmacéuticas semi-sólidas). Este es basado en la experiencia práctica de cada planta (o de la planta que transfiere el producto).

Esta evaluación la proporciona el personal del área de manufactura (producción) ejecutando el procedimiento de limpieza, al igual que el caso de la solubilidad en este caso es necesario contar con experiencia práctica proporcionada cualitativamente por el conocimiento del material que tienen los operadores que ejecutan la limpieza en el equipo (la idea base para la generación de la tabla se encuentra en Vesper, James L. Risk Assessment and Risk Management in the Pharmaceutical Industry, pp 176- 179). La ponderación base, se establece en la **tabla 4**.

**Tabla 4.** Ponderación con base en dificultad de limpieza.

Puntos	Clasificación
1	Fácil de remover, no específica resultados conocidos
2	Limpieza moderadamente fácil
3	Difícil de limpiar

- **Toxicidad.**

Esta se determina como el valor de Product Daily Exposure o PDE. No se contabiliza para el valor total de prioridad, solo indica el valor como Límite HBEL. En los casos de líneas y equipos multiproducto que tengan más de un producto que presenten mismo valor de prioridad, el valor PDE nos ayudara a establecer cuál es el producto prioridad y será el que tenga el valor más bajo de PDE. Ya que los productos con un límite de exposición ya sea tradicional o basado en la salud (HBEL) más estricto se tiene que dar prioridad a su validación de limpieza. Para productos fabricados en líneas o equipos dedicados se deben tratar separadamente en base a su valor de prioridad.

Para todos los productos (OEB 1, 2, 3, 4 y 5) se deberá calcular el valor PDE (exposición diaria permitida). A partir de este valor se calcularán los límites de exposición basados en salud (HBEL). El cálculo del PDE podría ser usado para determinar el límite de validación de limpieza, con base en la comparación con los límites existentes, y elegir el que sea el más bajo. El PDE también puede determinarse experimentalmente, en estos casos, cuando se cuenta con esta información, el valor que se determine experimentalmente es el que debe considerarse para realizar los cálculos.

Una vez obtenido el valor de prioridad, se deberá calcular el criterio de aceptación del producto peor caso para establecer el límite máximo permitido del principio activo del producto a validar.

- **Productos semejantes.**

La información para construir este criterio se refiere a la comparación de las formulaciones de los productos que comparten la línea multiproducto, esto se debe a que los productos semejantes presentaran características similares y el personal encargado de la limpieza experimentará un esfuerzo similar para ejecutar el proceso de limpieza, mientras la tabla de dificultad de limpieza recoge la experiencia de los operadores, el análisis preliminar de los productos de la línea multiproducto y sus similitudes, nos permite entender el tipo de retos que podemos esperar, la tabla fue generada a partir de la comparación de las formulaciones de los diferentes productos que entran en la línea, la puntuación busca crear una segregación con respecto a las formulaciones para identificar mejor los riesgos:

**Tabla 5.** Ponderación por dificultad de limpieza.

Puntuación	Clase	Explicación
-15 para todos los de baja potencia	Productos Homotéticos	Para productos con los mismos excipientes y de idéntica relación fármaco/ excipientes fabricados en el mismo equipo.
-15 para todos los de baja concentración	Diferentes concentraciones idénticas masas o volumen	El producto con la más alta dosis es prioritario.
-5 para las formulaciones sin componentes adicionales	Diferente composición	Elementos en la formulación que confieren características especiales a los materiales que se limpiarán, aunque las formulaciones sean muy similares.
-5 para Productos Combinados	Combinación de Productos	Prioridad en las formulaciones combinadas, esto es los productos con más de un principio activo, son más prioritarios que los que solo tienen un principio activo.

### 2.2.3 Establecimiento de límites aceptables.

La validación de limpieza maneja 3 tipos diferentes de límites que al ser verificados dan robustez al proceso de limpieza: (FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014)

1. El criterio de aceptación para trazas de principios activos.
2. El criterio de aceptación para trazas de agentes de limpieza o detergentes.
3. El criterio de aceptación microbiológico.

El criterio de aceptación para principios activos consta de dos componentes mayores. El primer componente es cualitativo, limpieza visual. El segundo está basado en un análisis cuantitativo. Un proceso válido deberá ser capaz de cumplir con los dos componentes en por lo menos un mínimo de tres muestreos programados. Los límites establecen un valor mínimo de determinación de trazas que permitirá garantizar la limpieza, es decir, para que pueda considerarse que la superficie esta libre del activo, el proceso de limpieza deberá ser capaz de eliminar las trazas del activo por debajo de este límite mínimo.

#### a) Limpieza visual

Criterio de visualmente limpio, como una inspección visual que es ejecutada y documentada después de la limpieza del equipo o área. Este criterio aplica a todas las superficies en contacto directo con el producto. El requerimiento es que la superficie debe ser inspeccionada lo más posible para verificar que se encuentre limpia, seca y libre de cualquier residuo o película visible.

El criterio visualmente limpio se puede aplicar para superficies que no tienen contacto directo con el producto (el ojo humano detecta aproximadamente hasta 5  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ ).

## b) Análisis cuantitativo

El análisis cuantitativo puede tener 3 fuentes y la recomendación es tomar el límite más estricto:

1. Conforme al numeral de la guía FDA, 21 CFR 211.67 en donde se indica que un límite adecuado puede ser 1/1000 de la dosis terapéutica, que significa el 0.1% de la dosis terapéutica normal. (FDA; Code of Federal Regulations Title 21; numeral 211.67, 2022)
2. Límite PDE, utilizando los conceptos de HBEL incluidos en la regulación de la EMA. (EudraLex Volume 4 – Good Manufacturing Practice; Capítulos: 3.6, 3.9, 3.14, 5.11, 5.18, 5.19; 5.20 y Anexo 15, 2011)
3. LD50, como el valor de referencia reportado en la hoja de seguridad del proveedor.

Conforme a los lineamientos de FDA, no más del 0.1% de la dosis normal terapéutica de un producto que aparezca en la dosis diaria máxima del siguiente producto a fabricar (También se conoce como el cálculo con dosis terapéutica).

El producto A se refiere al producto a ser limpiado mientras el producto B se refiere al producto posteriormente fabricado. Un límite L1 puede ser calculado como:

$$L1 = (0.001) \times \frac{\text{Mínima dosis diaria de activo del producto A}}{\text{Máxima dosis diaria del producto B}}$$

Conforme a la guía de la FDA, (FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014) este límite de residuo calculado como L1, debe compararse con el valor arbitrario (10 ppm), este se debe a que la práctica en la industria se ha referido que este valor refiere una acción terapéutica de 1/1000. Una vez que L1 ha sido obtenido, el límite de residuo aceptable en términos del nivel de contaminación por superficie será menor o mayor a 10 ppm. El valor que salga más bajo, será utilizado para el cálculo de L2 que es el límite expresado para la superficie de equipo a limpiar.

El nivel de contaminación por superficie de equipo (L2) puede ser determinado como sigue:

$$L2 = (L1) \times \frac{\text{Tamaño de lote del producto siguiente}}{\text{Área superficie del tren de equipos}}$$

Si el límite obtenido es cuantificable y además se encuentra en el rango de lo que usualmente puede identificar el ojo humano durante la inspección visual, el límite, es aceptado para ser aplicado. Esto es típicamente en el rango  $1 \mu\text{g}/\text{cm}^2 - 5 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ . En estos casos el límite calculado L2, se utiliza para el cálculo L3. Esto es, este nivel de L3 que puede entenderse como una transformación del límite a volumen y que puede ser determinado como sigue:

$$L3 = (L2) * \left( \frac{\text{Superficie de área hisopada}}{\text{Volumen de extracción del solvente}} \right)$$

Ejemplo:

**Criterio de dosis terapéutica:**

**Producto A:** Flagyl tabletas 500mg

**Producto B:** Aprovasc tabletas 300/10 mg; 300/5 mg; 150/10 mg; 150/5 mg)

$$L1 = (0.001) \times \frac{\text{Mínima dosis diaria de activo del producto A}}{\text{Máxima dosis diaria del producto B}}$$

Aplicando la formula con Pesos promedio del proceso: El producto Flagyl, solamente maneja un principio activo, por tanto, una concentración; sin embargo, Aprovasc maneja 4 concentraciones, ya que tiene 2 principios activos, para aplicar la formula se tienen los siguientes casos:

Caso 1: Flagyl 500 mg y Aprovasc 300 mg de lbesartán/10 mg de Amlodipino ó 300mg de lbesartán/5 mg de Amlodipino:

$$L1 = 0.001 \times \frac{767.14\text{mg/día}}{520 \text{ mg/día}}$$

Dónde:

767.14 mg/día, es la dosis diaria de activo Metronidazol, contenida en una tableta considerando peso promedio de proceso de Flagyl.

520 mg/día, es la dosis diaria de activo lbesartán, contenida en una tableta considerando peso promedio de proceso de Aprovasc 300 mg de lbesartán/10 mg de Amlodipino ó 300mg de lbesartán/5 mg de Amlodipino, en este caso se toma el activo de mayor concentración en la tableta, que es el lbesartán.

Conforme a lo anterior:

$$L1 = 0.00148$$

Cuando L1 se compara contra las 10 ppm, establecidas por FDA, el resultado es el siguiente:

$$0.000148 > 10 \times 10^{-6}$$

Caso 2: Flagyl 500 mg y Aprovasc 150 mg de Ibesartán /10mg de Amlodipino ó 150 mg de Irbesartán /5 mg de Amlodipino:

$$L1 = 0.001 \times \frac{767.14mg/día}{260 mg/día}$$

Dónde:

767.14 mg/día, es la dosis diaria de activo Metronidazol, contenida en una tableta considerando peso promedio de proceso de Flagyl.

260 mg/día, es la dosis diaria de activo Irbesartán, contenida en una tableta considerando peso promedio de proceso de Aprovasc 150 mg de Ibesartán /10mg de Amlodipino ó 150 mg de Irbesartán /5 mg de Amlodipino, en este caso se toma el activo de mayor concentración en la tableta.

Conforme a lo anterior:

$$L1 = 0.00295$$

Cuando L1 se compara contra las 10 ppm, establecidas por FDA, el resultado es el siguiente:

$$0.00295 > 10 \times 10^{-6}$$

Ninguno de los casos calculados resulta menor que 10 ppm, por tanto, un criterio adicional de reto puede ser considerar para los cálculos las dosis teóricas y considerar la concentración máxima de activo, la mínima de las concentraciones de amlodipino de Aprovasc que es 5 mg.

Caso 3. Con dosis de fármaco Flagyl 500 mg y Aprovasc 300 mg de Ibesartán/10 mg de Amlodipino ó 300mg de Ibesartán/5 mg de Amlodipino:

$$L1 = 0.001 \times \frac{500 mg/día}{5 mg/día}$$

Dónde:

500 mg/día, es la dosis diaria de activo Metronidazol, contenida en una tableta considerando dosis de marbete de Flagyl.

5 mg/día, es la dosis diaria de activo Amlodipino, contenida en una tableta considerando dosis de marbete de Aprovasc 150 mg de Irbesartán /10 mg de Amlodipino o 150mg de Irbesartán /5 mg de Amlodipino, en este caso se toma el activo de menor concentración en la tableta.

Conforme a lo anterior:

$$L1 = 0.1$$

Cuando L1 se compara contra las 10 ppm, establecidas por FDA, el resultado es el siguiente:

$$0.1 > 10 \times 10^{-6}$$

De lo anterior el cálculo de L2, utilizará el valor de 10 ppm, dado que todos los cálculos de 1/1000 de la dosis terapéutica resultan más grandes.

$$L2 = (L1) \times \frac{\text{Tamaño de lote del producto siguiente}}{\text{Área superficial del tren de equipos}}$$

$$L2 = (10 \times 10^{-6}) \times \frac{(200Kg)(109 \frac{mcg}{Kg})}{431398.72 \text{ cm}^2}$$

$$L2 = 4.63 \mu\text{g}/\text{cm}^2$$

**El cálculo de límites utilizando el PDE, puede determinarse de la siguiente forma:**

Los límites de exposición basados en Salud (HBEL) se derivan de la extrapolación de un OEL/OEB (Bandas y Límites de Exposición Ocupacional) a un PDE (Límite de Exposición Diaria Permitida) finalmente ajustado al proceso de producción tomando en cuenta tanto el producto limpiado como el posterior a fabricar y el área total compartida.

La determinación de un PDE implica:

- La identificación de riesgo repasando todos los datos relevantes.
- La Identificación "de efectos críticos"



- La determinación del nivel " ningún efecto adverso observado " (NOAEL, no observed adverse effect level por sus siglas en inglés).
- El empleo de varios factores de ajuste para representar varias incertidumbres.

El apéndice 3 [de ICH Q3C] presenta la ecuación siguiente para la determinación del PDE:

$$PDE \left( \frac{mg}{día} \right) = NOAEL \left( \frac{mg}{Kg} \right) \times \frac{Ajuste de Peso}{F1 \times F2 \times F3 \times F4 \times F5}$$

Dónde:

- F1: Un factor (valores entre 2 a 10), para representar extrapolación entre especies. (Un valor de 2 si se extrapola de ratón o de perro a humano, 2.5 de conejo a humano, 3 de mono a humano, 5 de rata a humano y 12 de cualquier especie diferente a humano). F1 toma en cuenta un comparativo de área superficial.
- F2: Un factor de 10 se da generalmente para todos los solventes orgánicos.
- F3: Un factor de 1 para estudios que duran por lo menos una vida media, de 2 para estudios de 6 meses en roedores, 5 para estudios de 3 meses en roedores.
- F4: Un factor (1-10) que puede ser aplicado en los casos de toxicidad severa, por ejemplo: no-genotóxico carcinogénico, neurotóxico o teratogénico. Un factor de 1 para toxicidad fetal, 5 para toxicidad fetal que no tiene toxicidad materna, 5 para efectos teratogénicos, 10 para efectos teratogénicos sin toxicidad materna.
- F5: Cuando solamente el LOAEL (Lowest Observed Affect Effect Level) este disponible, un factor de hasta 10 puede considerarse dependiendo de la severidad de la toxicidad.

Para calcular el Límite de Exposición Basado en Salud (HBEL):

- Se analizarán los activos que contiene el producto fabricado a limpiar.

- Una vez que se tienen identificados los activos se compararán sus Límites de Exposición Ocupacional (OEL) y se elegirá el caso más crítico, el activo con un OEL menor, aunque el cálculo de PDE y HBEL deberá realizarse para todos los activos del producto.

Cuando el PDE, no se puede obtener de manera experimental, la ecuación usada para estimación del PDE (dosis diaria sistémica) es:

$$PDE = OEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{m}^3} \right) \times 10 \text{ (m}^3\text{)} = YY \mu\text{g/día (A)}$$

Debido al riesgo identificado para mujeres embarazadas y por la precaución para la mujer de potencial maternidad, un factor de seguridad adicional de 10 es usado. Por consiguiente, el valor de PDE corregido sólo para estos casos será:

$$(A)/10 = [XX] \mu\text{g/ día: para XX es (A)/10 = PDE}$$

3) Una vez obtenido el valor PDE para cada activo del producto a limpiar se deberá realizar un segundo cálculo para evaluarlo con respecto al siguiente producto a fabricar. El caso más crítico en la línea multiproducto se deberá comparar contra el producto que tenga el menor tamaño de lote.

Límite HBEL del Producto A:

$$HBEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = PDE \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right) \times \frac{\text{Tamaño mínimo del siguiente lote (g)}}{\text{Máxima dosis diaria del producto B} \left( \frac{\text{g}}{\text{día}} \right) \times S(\text{cm}^2)}$$

Para ilustración, el producto A se refiere al producto que será limpiado, mientras el producto B se refiere al producto posteriormente producido.

La comparación para establecer el límite se realizará con el límite calculado a partir de la dosis terapéutica y límites de exposición basados en salud (HBEL). Se tomará como límite máximo permitido en equipos en contacto directo con producto el que resulte más estricto de los criterios evaluados. En los casos en que se inició la validación de con el límite LD50, este se

incluirá y se elegirá el más estricto de los tres criterios y esto aplica colocarlo en las revisiones de mantenimiento del estado validado.

Ejemplo: Cálculo del límite PDE; Flagyl 500mg:

$$HBEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = \text{PDE} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right) \times \frac{\text{Tamaño mínimo del siguiente lote (g)}}{\text{Máxima dosis diaria del producto B} \left( \frac{\text{g}}{\text{día}} \right) \times S(\text{cm}^2)}$$

Dónde:

$$PDE = OEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{m}^3} \right) \times 10 \text{ (m}^3/\text{día)}$$

El PDE puede estimarse a partir de la formula, o bien, obtenerse de de manera experimental. Existe igualmente una correspondencia entre el OEB y el OEL:

**Tabla 6.** Correspondencia de banda de exposición operacional contra Límite de exposición operacional.

OEB	OEL
OEB 5	<1
OEB 4	1 – 10
OEB 3	10 -100
OEB 2	100 – 1000
OEB 1	1000 -5000

Para el ejemplo descrito Flagyl tiene reportado un OEL de 3, por tanto el OEB es de 4. Conforme a lo anterior:

$$PDE = 3 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{m}^3} \right) \times 10 \text{ m}^3/\text{día}$$

$$PDE = 30 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right)$$

Producto A: Flagyl 500 mg

Producto B: Aprovasc 300/10 mg

$$HBEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = \text{PDE} \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right) \times \frac{\text{Tamaño mínimo del siguiente lote (g)}}{\text{Máxima dosis diatia del producto B} \left( \frac{\text{g}}{\text{día}} \right) \times S(\text{cm}^2)}$$

Para fármaco 1:

$$HBEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = 30 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right) \times \frac{200000 (g)}{0.3 \left( \frac{g}{\text{día}} \right) \times 431398.79(\text{cm}^2)}$$

$$HBEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = 30 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right) \times \frac{200000 (g)}{0.3 \left( \frac{g}{\text{día}} \right) \times 431398.79(\text{cm}^2)}$$

$$HBEL \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = 46.36$$

Para fármaco 2:

Dosis peso prom 0.520 g/día x 431398.79cm<sup>2</sup>

0.260 g/día x 431398.79cm<sup>2</sup> =56.81

**Criterio LD50.** El criterio LD50, se toma directamente de la información de las hojas de seguridad, la mayoría de los productos se basa en el LD50 ya que normalmente, resultan límites más estrictos. A pesar de que las actuales regulaciones no consideran válido este criterio, pues los HBEL se calcula a partir del límite de exposición diaria permitida (PDE), los comparativos pudieran demostrar que el LD50 sigue siendo un límite más estricto.

Conforme a lo anterior, para el criterio cuantitativo, se tomará como límite máximo permitido el que resulte más estricto de los criterios calculados y el LD50.

**Tabla 7.** Comparativo de límites en superficies: FLAGYL COMPRIMIDOS 500mg.

LD50 (µg / cm <sup>2</sup> )	Dosis Terapéutica (µg / cm <sup>2</sup> )	PDE (µg / cm <sup>2</sup> )
2.00	4.63	26.75

De la comparación, el criterio seleccionado para el límite de trazas de principio activo es el que reporta menor valor LD50 que es 2.00 µg / cm<sup>2</sup>.

El criterio de aceptación para trazas de agentes de limpieza o detergentes, igual que el de principio activo primero requiere la confirmación de que la superficie se encuentra visualmente limpia, aplica para todas las superficies en contacto directo con el producto, la superficie también debe encontrarse seca. Para determinar el nivel apropiado de trazas, todos los agentes de limpieza son clasificados con base al LD50:

- Un agente de limpieza estándar. Es aquel cuyo componente más tóxico tiene un LD50 mayor a 100 mg/kg.
- Un agente de limpieza de bajo LD50. Es aquel que tiene algún componente con un LD50 menor o igual a 100 mg/kg.

El menor LD50 es usado para determinar el criterio de aceptación más apropiado. El promedio de residuo de trazas de un componente mayor debe ser:

- Agentes de limpieza estándar: No más de 200 microgramos por 100 centímetros cuadrados.
- Agentes de limpieza de bajo LD50: No más de 100 microgramos por 100 centímetros cuadrados.

Sin embargo, para cualquier muestra, el residuo individual encontrado debe ser:

- Agentes de limpieza estándar: No más de 400 microgramos por 100 centímetros cuadrados.

Agentes de limpieza de bajo LD50: No más de 200 microgramos por 100 centímetros cuadrados.

El criterio de aceptación microbiológico se determina con base en la farmacopea. Los métodos de análisis deben ser validados. Es importante prestar atención a la desactivación de agentes antimicrobianos (por ejemplo, residuos de fármacos o principios activos) en muestras de validación de limpieza. Los límites aplicables dependen del proceso individual y se basan en la evaluación cuantitativa del riesgo sobre la existencia de microorganismos. La máxima biocarga en el equipo no puede exceder el 1% del tamaño del lote.

$$Cuenta\ viable = \frac{Biocarga\ del\ Producto \times 0.01 \times Tama\~no\ del\ lote\ en\ gr}{superficie\ de\ contacto\ (cm^2)}$$

Ejemplo:

Supongamos un recipiente de 100,000 cm<sup>2</sup> de superficie de contacto, un producto con una biocarga de 100UFC/gr y un tamaño de lote de 300Kg.

$$Cuenta\ viable = \frac{\frac{100\ UFC}{gr} \times 0.01 \times 300,000\ gr}{100,000\ (cm^2)}$$

$$Cuenta\ viable = \frac{3\ UFC}{cm^2}$$

De acuerdo a esto si realizamos una técnica de muestreo con hisopo utilizando un cuadro de 5 cm<sup>2</sup>, obtendremos lo siguiente:

$$\frac{3\ UFC \times 25\ cm^2}{cm^2 \times hisopo} = 75 \frac{cm^2}{hisopo}$$

El criterio microbiológico en superficies de equipos puede definirse con base al histórico de resultados de monitoreos ambientales microbiológicos en superficies de otros equipos o áreas en la planta y también en las validaciones de limpieza realizadas en el sitio.

Las pruebas microbiológicas, se definen conforme a la forma farmacéutica fabricada:

- Las pruebas que se evalúan para las formas farmacéuticas sólidas son: Cuenta Total, Hongos y Levaduras.
- Para las formas farmacéuticas líquidas son: Cuenta total, hongos, levaduras y el indicador de *Pseudomonas Aeruginosa*.
- Para formas farmacéuticas semisólidas: Cuenta Total, Hongos y Levaduras y el indicador de *Pseudomonas Aeruginosa*,
- Para formas farmacéuticas inyectables: Cuenta Total en áreas y Endotoxinas.

- Para productos biotecnológicos: Cuenta Total y residuos biológicos específicos de los productos con base a su monografía o conocimiento disponible.

Para los productos, se realizan pruebas de presencia de los microorganismos, se tienen límites de acción y se maneja un límite de alerta como límite permitido en el equipo. Con base en evaluaciones y el comportamiento histórico el límite de alerta puede variar, siempre es necesario realizar análisis de riesgo para definir el criterio microbiológico a aplicar.

#### **2.2.4 Métodos de muestreo**

Existen diversos métodos para verificar la ausencia de residuos, estos pueden ser métodos específicos (HPLC, IR) y no específicos (pH, conductividad y TOC). Los métodos no específicos resultan más fáciles de aplicar en un monitoreo de limpieza de rutina.

Todos los métodos empleados para muestreo de trazas deben estar validados. Existen varias técnicas válidas para obtener muestras de residuos de sustancias, su uso depende de la accesibilidad de la zona de muestreo.

- Como indicado previamente la inspección visual es el primer paso para ejecutar los estudios de validación de limpieza. Los métodos y los suministros requeridos para ejecutar la validación de limpieza deben incluirse en los procedimientos de limpieza antes de iniciar con el ejercicio de validación.
- Las técnicas de muestreo conocidas tienen 2 aproximaciones, la técnica de muestreo directa, donde se tiene interacción con la superficie, conocido como el hisopado o swabing o la técnica indirecta, donde la interacción se tiene con un agente que tuvo contacto con la superficie, conocida como la recolección de agua de enjuague, estos muestreos también utilizan para las pruebas de contaminación microbiológica.

- Las técnicas de muestreo seleccionados dependen de las siguientes situaciones:
- Equipos dedicados vs equipos compartidos, los equipos dedicados normalmente son el candidato perfecto para muestreos por agua de enjuague.
- Características de la suciedad (soil) como residuo del proceso (ejemplo: orgánico vs inorgánico).
- Solubilidad del residuo del proceso.
- Toxicidad de los componentes del residuo del proceso.
- Geometría del equipo, dificultad para limpiar conexiones u orificios.
- Diseño de sistemas y accesibilidad.
- Materiales de construcción.
- Análisis de riesgo.

Como regla general, los muestreos son utilizados para medir la eficacia de los procedimientos de limpieza. La elección de la metodología para soportar la confirmación de la limpieza es dependiente de la naturaleza de la operación. Por ejemplo, para sistemas abiertos que son fácilmente accesibles para hisopado, una combinación de inspección visual, agua de enjuague e hisopado puede utilizarse. Sin embargo, la inspección visual solamente, no se consideraría como suficiente. Para sistemas cerrados, que no son de difícil acceso los muestreos indirectos se pueden justificar como los apropiados.

Todas las muestras deben etiquetarse de manera precisa con un identificador único y se manejan de acuerdo con los procedimientos establecidos.

### **2.2.5 Mantenimiento del estado validado**

Una vez que la validación de limpieza se ha conseguido, es importante trabajar en el mantenimiento del estado validado, esto es porque la validación no es un evento puntual, sino más bien se trata de un proceso que asegura la robustez y consistencia de proceso a lo largo del ciclo de vida del producto.



El mantenimiento del estado validado de la limpieza se confirma periódicamente a través de re-evaluaciones que incluyen los siguientes elementos:

- Monitoreo de resultados,
- Controles de Cambio,
- Desviaciones
- Resultados de Investigaciones,
- Cambios en procedimientos de limpieza,
- Cambios en la ejecución o programación de recetas automáticas.

La evaluación periódica iniciara al realizar el reporte de validación de métodos analíticos, que permite confirmar que los métodos utilizados para identificar problemas de limpieza siguen siendo consistentes con el estudio de validación inicial, la revisión de métodos también incluye la confirmación de que los criterios de aceptación determinados para la validación inicial siguen siendo válidos.

La práctica normal implica realizar monitores de trazas al menos de manera anual, estos monitores también incluyen pruebas de TOC, pH y conductividad en muestras de agua de enjuague y moniotres microbiológicos con base en riesgo. También es importante definir con base en riesgo el criterio adecuado para plantear una revalidación total a partir de la información obtenida a través de estos ejercicios.

Las necesidades de revalidación deben revisarse durante el programa de mantenimiento a la validación que confirmará si el proceso de limpieza es aún consistente con el estudio de validación inicial y proporcionar la confirmación de que los criterios de aceptación que habían sido determinados continúan siendo válidos. La frecuencia y alcance de la recalificación siempre debe definirse con base a riesgo. La conclusión siempre debe determinar la salida total de la evaluación: "La validación continúa siendo vigente o se requiere revalidar".

## 2.3 LIMPIEZA

### 2.3.1 Principios fisicoquímicos de la limpieza – detergencia

Para poder definir un proceso de limpieza adecuado, primero hay que entender los fenómenos de superficie que pueden ocurrir y que pueden impactar al proceso de limpieza, esto se refiere a la interacción de los activos y excipientes presentes en los fármacos de los medicamentos y las superficies de los equipos que se encuentran en contacto con los mismos.

Los fenómenos más conocidos son: (Atkins, 2018); 11va Edición pp 823-835)

Adsorción: Se refiere a moléculas enlazándose a una superficie sólida, en este caso la sustancia que se absorbe o adsorbato son los fármacos o excipientes y el adsorbente o sustrato son las superficies de los equipos. Las superficies de los equipos en la industria farmacéutica buscan ser lisas, sin bordes y con acabado espejo, esto se debe a que se busca que las superficies sean lo más planas posible, debido a que rugosidades en la superficie pueden tener una fuerte influencia en el fenómeno de la absorción, por ejemplo una molécula que golpea alguna irregularidad de la superficie puede rebotar a través y bajo la influencia del potencial intermolecular y podría interactuar con la esquina formada por algún pliegue de la superficie. En lugar de interactuar solamente con el espacio de la superficie ahora estará interactuando con más superficies y esta interacción será más fuerte atrapando la molécula.

- Físicamente: Fisisorción es un enlace débil originado por las fuerzas de Van der Waals. La energía involucrada en la fisisorción es tan pequeña que puede ser disipada mediante movimiento térmico.
- Químicamente: Quimisorción que implica un cambio entre la densidad electrónica del sustrato y el adsorbato. La naturaleza del enlace puede ser intermedia entre iónico y covalente.

En procesos que implican temperatura y presión, ciertos materiales pudieran ser absorbidos por las superficies de equipos, en estos casos los procesos de calentamiento para tratar las superficies de los equipos son ampliamente recomendados.

- La tensión superficial, actuando como la fuerza que se opone a incremento del área superficial. Las moléculas en la superficie tienden a desequilibrarse y se genera una fuerza paralela en la superficie. En estos casos, se busca encontrar el equilibrio en los sistemas a partir de la adición de tensoactivos en el proceso de limpieza.

El proceso de limpieza de superficies de equipos busca que los fármacos, excipientes y los detergentes se disuelvan y entonces dejen libre la superficie del equipo.

La solubilidad de fármacos, excipientes y detergentes depende de varios factores:

- El equilibrio de la solución.
- De la ionización de las moléculas.
- El tamaño de las partículas.
- La forma del estado sólido.
- El pH
- Cinética de disolución y tamaño de partícula.

La idea principal es que la solubilidad no es una constante. Para poder conocerla se puede hacer uso de la siguiente ecuación:

$$S_w = S_u + S_i$$

Donde:

$S_w$  = Traza a Disolver

$S_u$  = La parte de la molécula que se ioniza.

$S_i$  = La parte de la molécula que no se ioniza.

La formula anterior también se podría expresar como:

$$S_w = S_u(1 + 10)^{PH - Pka}$$

Para ácidos débiles, en la medida en la que nos alejamos del Pk, crece la forma logarítmica y la solubilidad se comportará conforme al PH trabajado. Estaríamos buscando siempre que el PH, fuera mayor que el Pka para promover la disociación. Este caso es el contrario para bases. Por tanto, los procesos de limpieza multiproducto pueden considerar usar 2 tipos de detergentes, ácidos y bases.

Cuando se habla de procesos de limpieza, tenemos en cuenta las trazas de los activos y los tensoactivos que interactuarán con ellos.

Al aplicar los tensoactivos, la formula pudiera describirse así:

$$ST = SW + K * (C_{surf} - CMC)$$

Donde:

ST= Solubilidad total

SW= Traza a Disolver

Csurf= Concentración Tensoactivo en superficie

CMC= Concentración micelar crítica

### 2.3.2 La limpieza en la Industria Farmacéutica – métodos y materiales

El desarrollo del proceso de limpieza, es parte de la fase 1 del diseño del proceso para el desarrollo del producto. La limpieza, debe diseñarse para reducir los residuos de proceso, los agentes de limpieza, los microorganismos y las endotoxinas a niveles predefinidos. La limpieza se mejora a medida que se gana conocimiento en el proceso de manufactura. El desarrollo del proceso de limpieza y los métodos de prueba deben ejecutarse y documentarse en un reporte como un pre-requisito para la aprobación del protocolo de validación de limpieza. El procedimiento de limpieza debe especificar en detalle: los intervalos de limpieza y la metodología a utilizar, esto es para asegurar la consistencia y robustez de la operación ya sea manual o automática. Normalmente la siguiente información resulta relevante con respecto al tipo de limpieza:

- Automática: Ajuste o configuración de especificaciones, suministros y materiales, recetas, criterios de éxito (ejemplo: inspecciones visuales, conductividad de agua de enjuague final o TOC).
- Semi-automática: Patrones de carga, suministro y materiales, recetas, criterios de éxito (ejemplo: inspecciones visuales, conductividad de agua de enjuague final o TOC).
- Manual: Ajuste, suministros y materiales, instrucciones detalladas para asegurar la consistencia del proceso aun entre operadores, parámetros del proceso (ejemplo: cantidades, volúmenes, tiempo, temperatura, concentración de los agentes de limpieza), criterios de éxito (ejemplo: inspecciones visuales, conductividad de agua de enjuague final, pH o TOC).
- El número máximo de lotes procesados consecutivos en un equipo antes de la limpieza debe definirse y justificarse (este número máximo será conocido como campaña) para

revisar el riesgo relacionado a la degradación potencial de productos y contaminación microbiológica.

- El procedimiento de limpieza debe contener los detalles específicos que van a garantizar la eliminación de producto residual, detergentes, microorganismos y endotoxinas, este documento aprobado, es requerido, antes de iniciar la validación de limpieza.

Posterior a la ejecución del proceso de limpieza, se ejecuta el proceso de verificación, este proceso demuestra que el equipo es adecuado para uso en producción después de la última limpieza. Para realizar la verificación de limpieza es necesario que se defina una metodología.

La verificación de limpieza puede efectuarse en las siguientes situaciones:

- Mantenimiento del estado validado.
- Corridas de producción de una vez,
- Producción poco frecuente (ejemplo: un lote por año),
- Fármacos de productos en investigación o desarrollo o producto terminado para estudios clínicos.
- Corridas de escalamiento antes de iniciar con la validación de limpieza,
- Como requisito de investigación para una desviación,
- Validación concurrente como resultado de algún proceso de solución de problemas,
- Agrupación de familias de fármacos no concluidas en su totalidad para todos los miembros o el peor caso en sólidos.
- Cuando se extiende el tiempo de espera de equipo sucio.

### 3. ANTECEDENTES

#### 3.1 Indicios de contaminación cruzada en áreas multiproducto

Un evento que incrementó el interés sobre el potencial de contaminación cruzada debido a procedimientos inadecuados de limpieza, fue el retiro de producto terminado en 1988: Resina Colestiramina, (FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014) el granel utilizado para producir el medicamento se contaminó con niveles bajos de productos intermedios y de degradación de la producción de pesticidas. Se creyó que la contaminación se debió a la reutilización de tambores industriales que en principio se utilizaron para almacenar solventes recuperados. La firma involucrada, no contaba con controles adecuados sobre el uso de estos tambores de solventes, tampoco métodos de prueba para garantizar la ausencia de solvente en los tambores y no contaba con procedimientos de limpieza validados para los tambores. La consecuencia incluyó contaminación con pesticidas de las bolsas utilizadas para el secador de lecho fluido, provocando contaminación cruzada a gran escala en los lotes producidos. (FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014)

En 1992, la FDA generó una nueva alerta relacionada con la manufactura de un granel farmacéutico proveniente del extranjero, el cual fue manufacturado en una instalación donde productos esteroideos y no esteroideos podían ser obtenidos utilizando los mismos equipos. (FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES, 2014). La firma contaba con evidencia de la presencia de residuos de productos derivados y de degradación de procesos previos, a través de pruebas de cromatografía de capa fina en agua de enjuague.

Históricamente la FDA ha mostrado una preocupación especial con la contaminación de productos no penicilínicos, con penicilínicos, o bien la contaminación con productos esteroideos u hormonas. Cierta número de recuperaciones de producto (*recalls*) han sido documentadas en las últimas décadas, debidas, ya sea a contaminación cruzada o sospechas de contaminación cruzada en este tipo de medicamentos.

### **3.2 Evolución en la regulación sanitaria respecto a la validación de limpieza en el mundo**

En 1993, la FDA publicó la primera guía sobre validación de limpieza, se tituló, "Mantenimiento de Equipo y Limpieza" (FDA; Code of Federal Regulations Title 21; numeral 211.67, 2022) En esta guía se estableció que la limpieza se efectuaba para remover materiales contaminantes del producto y también los no asociados con producto que pudieran causar efectos en la salud de los pacientes y/o la calidad de los medicamentos. Esta guía considera que las limpiezas inefectivas generan producto adulterado, que puede estar contaminado por productos previos, agentes de limpieza y por otros materiales externos introducidos o bien, generados dentro del proceso. Conforme a lo anterior, la efectividad de la limpieza es un componente esencial del aseguramiento de la calidad, las buenas prácticas de manufactura y la seguridad del paciente. La FDA exige que las compañías tengan por escrito el procedimiento general del proceso de limpieza que será validado, en el que debe estar indicado también el de muestreo y el método analítico usado en la cuantificación. Luego de aplicar en los equipos la limpieza establecida en los procedimientos normalizados de operación, el residuo debe encontrarse dentro de las concentraciones permisibles predeterminadas. Para comprobar esto, se necesita un método analítico y otro de muestreo que garanticen, que el contaminante está siendo recobrado de la superficie del equipo, así como la cantidad que se recupera, con el objetivo de poder comprobar que el método tiene la capacidad de determinar a nivel adecuado la cantidad de trazas de contaminante que pueden permanecer en la superficie de un equipo posterior al proceso de limpieza.

Adicional a la normatividad establecida por la FDA, existen otras normativas importantes alrededor del mundo, como las de la EMA "European Medicines Agency" (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, 2015) , la organización mundial de la Salud "WHO- World Health Organization" (WHO Drug Information Volumen 34 Número



2 – Points to consider on the different approaches ; Sección 5, 2020) , las guías PIC/S “Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme” (PICS - Guideline on setting HBEL for use in risk identification in the mfg of different prod in share facilities, 2018) , TGA “Therapeutic Goods Administration, el Ministerio de Salud de Australia” que adoptó las guías PIC/S referidas anteriormente, Health Canada “el Ministerio de Salud de Canada” (Health Canada: Cleaning validation guide (GUI-0028); Capítulo 7, 2021) , la guía PDA “Parenteral Drug Association” (PDA, 2012), ISPE “la Sociedad Internacional de Ingeniería Farmacéutica ”, APICs “Comité de Ingredientes Activos Farmacéuticos” (Cleaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, and Controls ISPE Cleaning Validation Guideline; Capítulo 6, 2020, August), ASTM “Sociedad Americana para pruebas y Materiales” (ASTM, 2022) y adicionalmente la NOM-SSA1-059 de COFEPRIS “Comisión Federal para la Protección de Riesgos Sanitarios” en México. Se considera que cumplir con los requerimientos de robustez de estas normas, es suficiente para garantizar niveles de limpieza aceptables en la manufactura farmacéutica, en cualquier parte del mundo. Muchas comparten criterios y establecen el marco de referencia requerido para definir el ejercicio de la validación de limpieza en el mundo farmacéutico.

En 2012, la Parenteral Drug Association (PDA, por sus siglas en inglés) publicó 2 reportes separados relacionados a la Validación de Limpieza; el Reporte Técnico 29 para actividades de limpieza y el reporte 49 para productos biotecnológicos. Estas guías fueron clave para establecer a profundidad los métodos descritos en procedimientos estándar de operación en las compañías farmacéuticas. Para el trabajo de referencia el reporte 49 no será utilizado debido a que la línea multiproducto analizada, no maneja este tipo de productos. (PDA, 2012)

En agosto 2014, la EMA, Agencia Europea de Medicamentos, publicó el Eudralex Volumen 4, en el cual se incluyeron las guías para las buenas prácticas de manufactura de productos medicinales para uso humano y veterinario. La razón central de los cambios fue establecer mejoras sobre la prevención de contaminación cruzada. Se definió que esta contaminación debe prevenirse para todos los productos a través del diseño y la operación de las instalaciones de manufactura. (Guideline on setting health based exposure limits for use; Págs. 4- 8, 2014)

La EMA tomó el enfoque de establecer guías de validación de limpieza que toman criterios con base en riesgo, para la prevención de contaminación cruzada en instalaciones de producción compartidas. La guía fue efectiva en junio de 2015, haciendo mandatorio un concepto para establecer límites de exposición basados en salud (HBEL, Health Based Exposure Limits) para todos los productos basados en los valores de exposición diaria permitida (PDE, Permitted Daily Exposure), esta normativa se encuentra descrita en el Apéndice 3 de las guías ICH Q3C (R4).

El HBEL debe establecerse para todos los productos. Los datos toxicológicos o farmacológicos sobre los cuáles el HBEL se fundamenta, requieren una revisión periódica a través del ciclo de vida del producto. Establecer el HBEL es solamente el comienzo. Estos valores trabajan como las bases para determinar controles adicionales que deban ser implementados de acuerdo con el proceso de Manejo de Riesgos de Calidad. El HBEL trabaja como un límite de aceptación de residuos, sin embargo, la EMA indica que es necesario establecer límites de alerta con base en el histórico utilizado para límites de limpieza para asegurar que el proceso de limpieza es capaz. Por ejemplo, si el histórico es un límite basado en dosis como peor caso, pero el resultado en el  $Cpk < 1.33$ , el límite de alerta necesita establecerse con base en la evaluación estadística y no con el límite de dosis.

La EMA requiere pruebas analíticas al cambio de producto, excepto en los casos en donde el riesgo se cuantificó como bajo. La cuantificación del riesgo se hace con base en la severidad (escala de toxicidad del API), probabilidad (Capacidad del proceso de limpieza) y detectabilidad (umbral visual).

El Esquema de Inspección Farmacéutico de Cooperación/ Convención (PIC/S) siguió a EMA y liberó su propia versión de la nueva guía de validación de limpieza para la prevención de

contaminación cruzada; *PI-046-1* (PICS - Guideline on setting HBEL for use in risk identification in the mfg of different prod in share facilities, 2018)

*1 – Guía para el establecimiento HBEL es instalaciones multipropósito, efectiva en Julio 1, 2018).*

Esta guía fue un paso relevante para que la industria empezara a moverse hacia programas de validación de limpieza basados en riesgo, esto se debe a que PIC's tiene alrededor de 50 países como miembros. Es por este hecho que la validación de limpieza con base en EMA ha cobrado mayor relevancia. Mucho del enfoque a partir de la liberación de la guía, es a que se estableció que durante las inspecciones se debe poner atención al manejo de riesgos de contaminación cruzada; sin embargo, la cantidad de tiempo dedicado dependerá del nivel de peligro de todas las moléculas, el tipo y número de productos manejados y el grado en el cual se ha probado que las instalaciones son separadas y dedicadas. PICS también ofrece documentos para construir planes de análisis de riesgos holísticos para entender la contaminación cruzada en instalaciones compartidas. (PIC/S PI006-3 – Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, non-sterile Process Validation, Cleaning Validation, Págs. 17-20), 2007)

La TGA (*Therapeutic Goods Administración, Autoridad de Salud en Australia*) adoptó el enfoque de PICS, dando una señal temprana de que los países afiliados a PICs pronto se añadirán al enfoque de procedimientos de validación de limpieza basados en riesgo y ciencia. (Broderick & Cleaning Validation a regulatory perspective, 2017, págs. 6 -12)

Health Canada, en su guía de validación de limpieza (Guía-0028), tiene incluidos algunos requerimientos únicos que son conocidos en la industria, sin embargo, no mencionados en otras guías. El principio 3.5 de la guía, refiere que los procedimientos de limpieza de productos y procesos que son muy similares no necesitan una validación individual. La aplicación correcta de este requerimiento tiene una alta dependencia a que se pueda definir con claridad que es equipo y área de contacto multiproducto o bien, ambientes que involucren los equipos que

son multiproducto. Tomar un enfoque de validación en donde las superficies de contacto de equipos sean multiproducto, pero considere que los productos y procesos no son similares requiere de un análisis adicional, puede resultar en ineficiencias severas en términos del número de lotes de validación, así como el costo de cumplimiento. (Health Canada: Cleaning validation guide (GUI-0028); Capítulo 7, 2021)

En 2014, el Comité de Ingredientes Activos (APIC: Comité creado en Europa 1998 para coordinar los intereses de los miembros representados con las asociaciones de la industria) publicó su guía para validación de limpieza, que es empleada altamente por las organizaciones dedicadas a la producción de materias primas de principios activos. APIC revisó esta guía en 2016 para incorporar la guía de EMA sobre utilizar los valores de HBEL. ([APIC] - Active Pharmaceutical Ingredients Committee - Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants, Pág. 8, 2021)

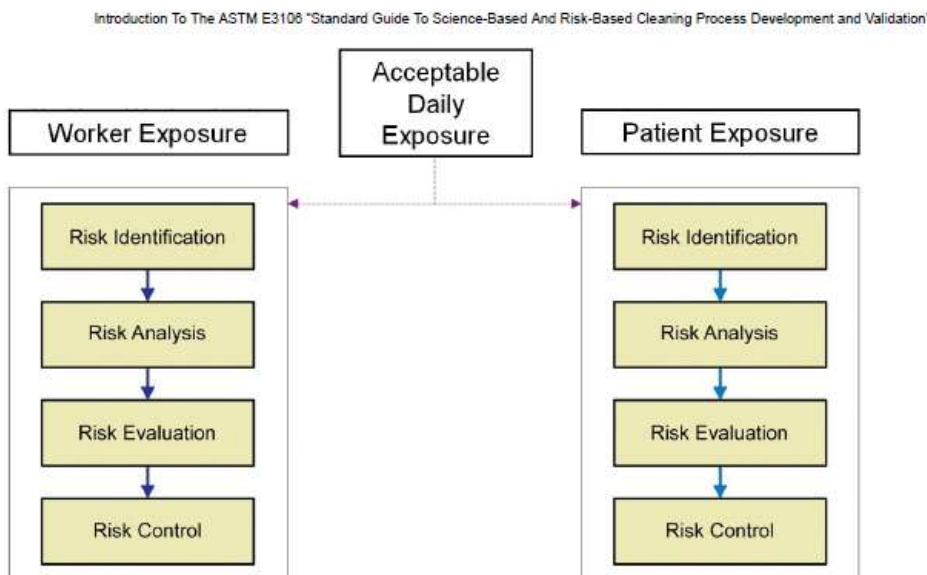
En 2015, la COFEPRIS, generó una nueva revisión del la NOM-SSA1-059, el enfoque principal para limpieza se centra en la remoción de residuos a niveles aceptables de los productos de proceso y los agentes de limpieza, igualmente plantea como es necesario ejecutar procesos de sanitización posterior a la limpieza para garantizar la eliminación o remoción de partículas viables (microorganismos o endotoxinas).

En 2017 ISPE (*International Society of Pharmaceutical Engineering*) revisó su documento guía base para el mapa de riesgos (*Risk-Based Manufacture of Pharmaceutical Products*), publicando la segunda edición de la guía, esta revisión está en línea con los requerimientos establecidos por EMA en 2014 tomando el HBEL como referencia. La guía establece principios de alto nivel, así como detalles de implementación específicos para establecer procedimientos estándar de operación que se basan en ciencia y riesgo. ISPE también publicó otra guía en septiembre 2020 llamada Ciclo de Vida de la Validación de Limpieza- Aplicaciones, Métodos y

Controles (*Cleaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, & Controls*). (Cleaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, and Controls ISPE Cleaning Validation Guideline; Capítulo 6, 2020, August)

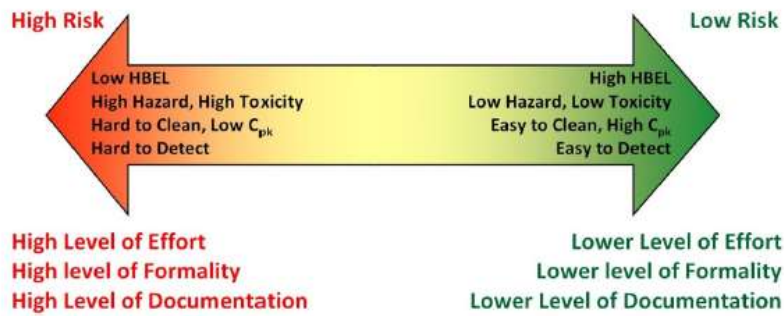
Finalmente, la Sociedad Americana para pruebas de materiales (ASTM por sus siglas en inglés) publicó recientemente el ASTM 3106- 18e1 – Guía estándar para el desarrollo y la validación de limpieza basado en ciencia y riesgo (*Standard Guide for Science-Based and Risk-Based Cleaning Process Development and Validation*), este es el último documento publicado sobre validación de limpieza, incluye muchos conceptos basados en ciencia, basados en riesgo y estadística. Esta guía soporta y es consistente con muchos elementos de las guías ICH Q8, ICH Q9, ICH Q10 e ICH Q11. (ASTM, 2022).

La guía aborda el concepto sobre el riesgo de exposición del trabajador al principio activo y lo compara con el riesgo de exposición al paciente en un concepto de Exposición Diaria Aceptable, o bien, ADE, por sus siglas en inglés:

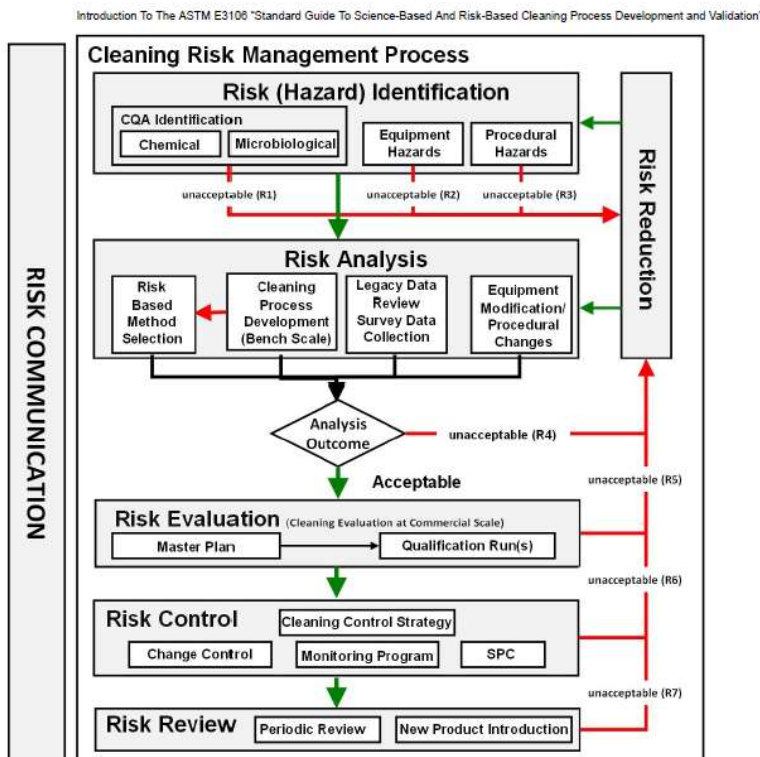


Siendo el ADE, la base para la definición del análisis de riesgo necesario para la definición de la validación de limpieza:

$$\text{Risk} = f(\text{Toxicity of a Residue, Level of the Residue, Detectability of the Residue})$$



Mientras el impacto a la exposición y la toxicidad son más bajos, el riesgo es menor, a esto se refiere que la tolerancia del trabajador a la exposición sea más alta. Por otro lado, la guía de ASTM, incluye consideraciones sobre los riesgos químico y microbiológicos, así como los asociados con el equipo y los procedimientos de limpieza, esto permite tener consideraciones adicionales a la validación:



En Julio 2020, WHO publicó un documento draft donde integró los puntos a considerar en diferentes aproximaciones para establecer los límites de acarreo en validación de limpieza para la identificación de riesgos de contaminación en instalaciones de manufactura compartida (multipropósito) - incluyendo HBEL -. Esta guía está claramente inspirada en la revolución causada por el HBEL que por el momento es el principal enfoque de las agencias regulatorias. También incluye una escala indicativa de riesgo para medir el peligro basado en valores PDE. (WHO Drug Information Volumen 34 Número 2 – Points to consider on the different approaches ; Sección 5, 2020)

### **3.3 Estudios de validación en líneas multiproducto**

Con base en ello y los demás documentos existentes la industria farmacéutica ha ejecutado sus protocolos de validación de limpieza para garantizar que son eficaces y mantienen dentro de límites aceptables los posibles contaminantes.

Las tendencias de las observaciones relacionadas a limpieza o validación de limpieza marcan que la validación de limpieza se encuentra en el top 3 de las observaciones que se efectúan por parte de los ministerios de salud a las plantas de manufactura de fármacos o medicamentos, tan solo en el 2019, la FDA generó 81 observaciones al respecto, los temas centrales:

- No existe un procedimiento de sanitización antes de su uso con el objetivo de remover contaminación microbiológica.
- Deficiencias en la definición de periodos de tiempo de espera de equipo limpio,
- Ausencia de estudios de tiempos de espera de equipo sucio,
- La validación de limpieza no se condujo identificando el peor caso de producto considerando factores como: equipos involucrados, número de lotes manufacturados por año, solubilidad, facilidad de limpieza, potencia terapéutica, etc.

Por mencionar algunos ejemplos relevantes:

1. A una instalación en Nueva Jersey: "El auditor notó que los métodos de limpieza y mantenimiento del equipo eran inadecuados: se encontró un trapo sucio dentro de la tableteadora y había polvo amarillo en el cuarto de recubrimiento, sin embargo, el color de polvo del último lote procesado era blanco. Los detectores de metales no tenían procedimientos de limpieza o instrucciones de seguridad. En suma, los dispositivos utilizados en la manufactura como: cucharas de acero inoxidable y otros, no estaban incluidos en los procedimientos de limpieza, la cuchara de acero inoxidable tampoco tenía una bolsa para garantizar su estatus de limpieza".
  
2. En otro caso, se identificó para un fabricante de medicamentos: "No se puede asegurar que sus métodos de limpieza y sanitización son adecuados, sus procedimientos carecen de instrucciones detalladas, esto se observó en los procedimientos de limpieza de recipientes y bombas de transferencia. Esto es particularmente importante, debido a que sus líneas son multiproducto y se observó que algunos de los excipientes y principios activo presentan baja solubilidad, lo que hace al equipo difícil de limpiar y puede resultar en contaminación cruzada para los productos manufacturados.
  
3. En otra instalación se reportó que se encontró oxidación e insectos en la superficie del equipo y que algunas piezas estaban dañadas. También se observó que había algo de polvo en la superficie del equipo, sugiriendo que los lotes podían estar contaminados con trazas de manufactura de lotes previos.

Con lo anterior se observa que es necesario establecer un protocolo adecuado para la validación de limpieza en líneas de fabricación donde se manufacturan varios productos farmacéuticos, esto debido al riesgo de contaminación cruzada.



#### 4. JUSTIFICACIÓN

La limpieza es un elemento de control para la contaminación cruzada, un proceso adecuado de limpieza deberá prevenir que este tipo de contaminación pueda existir en las superficies de contacto con los productos. El enfoque de la validación de limpieza es garantizar la robustez, consistencia y reproducibilidad del proceso de limpieza en equipos y área de manufactura, sobre todo en líneas de producción multiproducto, así como generar información y evidencia suficiente y necesaria para determinar que se alcanzan niveles aceptables de limpieza en cuanto a trazas de residuos químicos, físicos o biológicos durante la manufactura de los medicamentos. Lo anterior con el principal y fundamental objetivo de preservar la seguridad, identidad, pureza y eficacia de los productos farmacéuticos, lo que tiene un impacto directo en la salud y el bienestar de los usuarios finales, los pacientes, quienes confían enteramente que un medicamento le proveerá cura, rehabilitación o prevención a los padecimientos que lo aquejan.

Es por ello por lo que, en el presente trabajo se aplicó un estudio concurrente para establecer los criterios para la validación de limpieza de un área multiproducto. El área de estudio es Granulación Húmeda 3, una instalación para la manufactura de granulados de sólidos orales de la empresa Sanofi Aventis de México, S.A. de C.V., donde se manufacturan hasta 9 productos diferentes, que utilizan 6 activos diferentes y se utilizan en la misma línea los equipos de Granulador Aeromatic PMA800, Molino Frewitt Coniwitt-250, Molino Quadro Comil U20, Mezclado Hobart M-802, Transportador de Vacío PIABB 1, Marmita Polinox 50L, Secador de Lecho Fluido Niro Eromatic TSG6 y Tamizador Vibrante Russell , la cual fue sujeta a la definición de procedimientos de limpieza y los requerimientos de validación contemplados dentro de la normativa nacional e internacional.

## 5. HIPÓTESIS

La metodología de limpieza definida por el área de producción es efectiva para la remoción del Peor Caso en la línea multi-producto de granulación 3, la cual lleva el nivel de trazas dentro de límites preestablecidos.

## 6. OBJETIVOS

### 6.1 General

Llevar a cabo la validación de limpieza de un área farmacéutica multi-producto para generar la evidencia documentada de que el método de limpieza es efectivo, reproducible y apto para eliminar residuos del API peor caso de la línea multiproducto dentro de límites preestablecidos.

### 6.2 Objetivos Particulares

- Definir el alcance del área multiproducto en cuanto a equipos involucrados para establecer el "Peor Caso del producto", mediante la compilación de información referente a los API involucrados y los criterios de las guías de validación.
- Calcular el límite máximo de residuo para el peor caso mediante el uso de los algoritmos establecidos en las guías FDA y WHO para la validación de limpieza.
- Ejecutar el Procedimiento Normal de Operación establecido para la limpieza de los equipos de la línea multi-producto definido por el área de manufactura mediante la aplicación de un protocolo de validación de limpieza que establece los parámetros de control a verificar y los criterios de aceptación.

- Definir un plan de muestreo para la validación de limpieza para establecer los puntos a evaluar y los métodos de recolección de muestra, hisopado y/o agua de enjuague.
- Analizar mediante el método de trazas definido, el contenido de API "peor caso" en las muestras tomadas para determinar el estado de la validación y establecer el grado de cumplimiento con los requisitos preestablecidos sobre eliminación de trazas.

## 7. MATERIALES Y EQUIPO

Conforme a lo establecido en el capítulo 3, la validación de limpieza se compone de análisis específicos y análisis inespecíficos que evalúan la parte fisicoquímica y microbiológica sobre la limpieza.

Dentro de los análisis inespecíficos se encuentran:

- Evaluación de aspecto del agua de enjuague.
- pH del agua de enjuague.
- Conductividad del agua de enjuague.
- TOC (Carbón Orgánico Total)
- Formación de espuma.

Estas cinco pruebas determinan de manera inespecífica que el proceso de limpieza ha sido ejecutado de manera correcta, se busca que el agua de enjuague tenga las características normales de agua, el grado del agua de enjuague, es equivalente al grado de agua para la manufactura (ejemplo: Grado Purificada o Grado Inyectable), del producto, por ejemplo: si el producto emplea agua purificada, el último enjuague del equipo deberá realizarse con agua purificada, por tanto, se busca que el agua de enjuague colectada cumpla con las características de esta agua, esto será una determinación inespecífica de que las trazas de

activo, biofilm y detergente fueron eliminadas correctamente en el proceso de lavado y enjuague.

Los materiales requeridos para evaluar las pruebas a continuación:

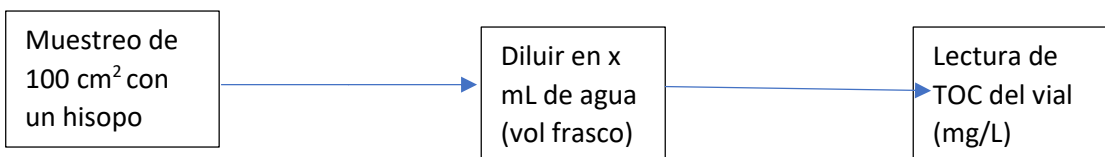
- Evaluación de aspecto del agua de enjuague.
  - Un contenedor inerte que puede ser un recipiente de vidrio limpio que permita coleccionar el agua de enjuague para hacer una posterior evaluación de las propiedades físicas como apariencia, olor y color.
- pH del agua de enjuague.
  - Potenciometro calibrado y calificado. El utilizado para este ejercicio, será un potenciómetro de la marca Mettler Toledo, del modelo: Seven Excellence, la línea S470 es especialmente útil, ya que con el mismo equipo se puede determinar la conductividad.
- Conductividad del agua de enjuague.
  - Conductivimetro, puede utilizarse el mismo equipo si cuenta con las capacidades de medir conductividad, o bien utilizar un conductivimetro, también se deberá contar con un termómetro calibrado, pues la medición de conductividad debe realizarse a 25°C.
- TOC (Carbón Orgánico Total) (Capítulo General – USP 43 (643) – Total Organic Carbon):
  - TOC Serie L – Marca Shimadzu.
  - Sonicator.
  - Hisopos.
  - Viales de 50 mL.
  - Papel Aluminio.

**Procedimiento:**

- Anote todos los datos de la muestra en el formato de reporte de resultados: número de lote, fecha de muestreo y nombre de quien realiza el muestreo. Para las muestras tomadas por enjuague el volumen de enjuague.
- Sonique las muestras que tienen hisopo durante 5 minutos, retire el hisopo del frasco y realizar las siguientes pruebas a la muestra:
  - Para TOC, pase la muestra a un vial de TOC, tape el vial con papel aluminio y coloque la rosca, coloque todos los viales de cada muestra en el automuestreador del TOC.
- Si la muestra fue tomada por el método de enjuague. Tome el dato de volumen de agua con que se hizo el enjuague y de la muestra colectada del enjuague. Pase la muestra a un vial de TOC, tape con papel aluminio y coloque cada vial en el automuestreador del TOC.
- Para programar el equipo siga el Procedimiento de Operación del Analizador de TOC código SAC2C001 edición vigente. Verificar que el equipo se encuentre calibrado, realizar la adecuabilidad de sistema cuando aplique.

Una vez obtenido los registros de TOC realizar los siguientes cálculos para cada lectura:

**1. MUESTREO POR HISOPO:**

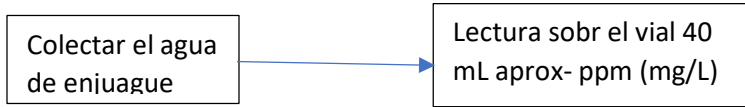


$$\left( \frac{\text{Lectura en mg} \times \text{Vol. de muestra (mL)} \times \text{FR} \times 1000 \mu\text{g}}{1000 \text{ mL} \times 1 \text{ mg}} \right) = \frac{\text{Resultado en } \mu\text{g}}{100 \text{ cm}^2} \text{ ó } \mu\text{g/hisopo}$$

FR= Factor de recobro por Hisopo valor obtenido de la validación del método de recobro para TOC = 0.9786

Si se utiliza más de 1 hisopo para el muestreo dividir el resultado entre el número de hisopos

## 2. MUESTREO POR ENJUAGUE:



$$\left( \frac{\text{Lectura en mg} \times \text{Vol. de muestra (mL)} \times \text{FR} \times 1000\mu\text{g}}{1000\text{mL} \times \text{área total muestreada}} \right) = \frac{\text{Resultado en } \mu\text{g}}{100 \text{ cm}^2}$$

FR= Factor de recobro por Enjuague valor obtenido de la validación del método de recobro para TOC = 1.058

- Formación de espuma:
  - Probeta de 100mL con tapón.

Esta prueba es un soporte para comprobar que no existen trazas de detergente.

### Procedimiento:

Colocar 40 mL de la muestra en una probeta con tapón, taparla, agitarla, y colocarla en una superficie lisa y observar que no se forme espuma.

### Material necesario para muestreos de trazas de rutina:

- Frascos de vidrio para uso exclusivo de análisis por TOC lavados con ácido nítrico.
- Hisopos de poliéster, Etiquetas o Masking-tape y Marcador

### Material necesario para muestreos de validación de limpieza.

- Tubos de ensayo con tapón de rosca con aproximadamente 5ml del solvente correspondiente al último producto fabricado en el equipo y/o área a muestrear (para muestras de residuos API).
- Jarra de plástico de 1 L ó 5 L
- Frascos de vidrio tipo pirex de 1 L y de 250 mL exclusivos para TOC.
- Hisopos de poliéster Texwipe TX714A

**Tabla 8.** Condiciones cromatográficas para trazas de API:

<b>MÉTODO ANALÍTICO:</b>	HPLC
<b>EQUIPO:</b>	Cromatógrafo de Líquidos: Waters Software Empower Bomba: Isocrática Detector: Dual $\lambda$ Absorbance
<b>COLUMNA:</b>	MBondapack C18, 300/3.9/10 $\mu$ (CAT. WATO2718) WATERS
<b>VOLUMEN DE INYECCIÓN:</b>	30 $\mu$ L en cada caso
<b>FLUJO:</b>	1.5 mL/min.
<b>DETECCIÓN:</b>	UV, a 310 nm
<b>TEMPERATURA:</b>	Ambiente
<b>TIEMPO DE RETENCIÓN:</b>	5.1 min. aprox.
<b>TIEMPO DE CORRIDA:</b>	10 min.
<b>FASE MÓVIL:</b>	Agua 80 mL Metanol 20 mL
Filtre y desgasifique la fase móvil antes de usar a través de membrana GH Polypro de 0.2 $\mu$ m.	

**Preparación de la solución estándar:**

Preparar por duplicado. Pese alrededor de 20.0 mg de Metronidazol Estándar de Referencia en un matraz volumétrico de 100 mL, disuelva y lleve al aforo con METANOL. Tome una alícuota de 1.0 mL de la solución stock en un matraz volumétrico de 50 mL, diluya y lleve al aforo con METANOL. Después de cada 6 inyecciones de las muestras intercalar 1 inyección de cada estándar. Realizar el cálculo con el total de inyecciones. Proceder de acuerdo al Método General de Análisis 0241 de la FEUM edición vigente.

Preparación de la muestra:

Extraiga la muestra del hisopo, con METANOL y sonique por 5 minutos, transfiera la solución a un matraz de 50 mL, diluya y lleve al aforo con METANOL.

FACTOR DE RECOBRO: 1.053 (Hisopo) 1.034 (Enjuague)

## CÁLCULOS

Calcule la concentración real de la muestra por hisopo:

$$\frac{\mu\text{g}}{\text{Hisopo}} = \frac{(\text{Amtra})(\text{Conc. Std})(50\text{mL})(\text{FR})(1000)}{(\text{Astd})(\text{Hisopo})}$$

Donde:

- Amtra = Área o Absorbancia de la muestra
- Astd = Área o Absorbancia del estándar
- Conc.Std = Concentración del estándar
- 50 mL = Volumen de aforo de la muestra
- FR = Factor de Recobro (Hisopo) específico para el principio activo y producto
- 1000 = Factor de conversión a  $\mu\text{g}$

Calcule la concentración real de la muestra por volumen (solo en muestras de enjuague):

$$\frac{\mu\text{g}}{\text{Volumen}} = \frac{(\text{Amtra})(\text{Conc. Std})(\text{Vol. mL})(\text{FR})(1000)}{(\text{Astd})}$$

Donde:

- Amtra = Área o Absorbancia de la muestra
- Astd = Área o Absorbancia del estándar
- Conc.Std = Concentración del estándar
- Vol. mL = Volumen de enjuague de la muestra
- FR = Factor de Recobro (Enjuague) específico para el principio activo y producto
- 1000 = Factor de conversión a  $\mu\text{g}$

Cuando no detecte ninguna señal del activo que indique trazas, reportar como NO DETECTABLE.

Cuando detecte señal del activo, pero sea por debajo del límite de cuantificación reportar como NO CUANTIFICABLE.



**Materiales para el análisis microbiológico.**

- Frascos de Nalgene de 250 mL estériles, identificados con la fecha de muestreo y punto de muestreo.
- Jarra de Nalgene de 5 L
- Charola de plástico, Pinzas estériles, Gasas o equivalente estéril, Contenedor de desagüe.
- Cassette cat. MXLMC0120 Millipore, Vaso Milliflex cat. MXHAW15124 Millipore.
- Medio de cultivo extracto glucosa triptona M000 00P 2T Millipore.
- Medio de cultivo selectivo para Pseudomonas cat. M000 00P 2P de Millipore.
- Desinfectante en uso de acuerdo al rol de desinfectantes autorizado.
- Marcador y Masking-tape.
- Reactivo Bactident-Oxidasa.
- Probeta de vidrio despirogenizada o Jarra de vidrio despirogenizada
- Matraces Erlenmeyer o frascos libres de pirógenos

**Equipos para análisis microbiológico:**

- Equipo Milliflex-100 de Millipore (single-head pump o twin-head pump).
- Incubador de 30-35°C. Incubador de 22.5 + 2.5 °C.
- Autoclave.
- Horno de despirogenización.

**Procedimiento general:**

1. Cuenta total de bacterias mesofílicas aerobias usando filtración a través de membrana.

Utilice el equipo Milliflex de Millipore.

Analice las muestras de enjuague que reciba a la mayor brevedad posible o en su defecto almacénelas en refrigeración no más de 4 horas para su posterior análisis.

Agite cada frasco para homogeneizar la muestra.

Realice la filtración de 10 ml de muestra en el equipo Milliflex, impregne el cojinete con medio de cultivo extracto glucosa peptona y ponga en contacto la membrana con el medio de cultivo (cojinete). De la misma forma filtre 10 mL de agua de la muestra identificada como blanco o la misma cantidad de la muestra filtrada.

Identifique cada una de las muestras (cassette), fecha de análisis y volumen filtrado. Prepare un testigo negativo con medio de cultivo de manera similar.

Coloque las placas en forma invertida en una charola de plástico e incube durante 72 horas a 30-35°C. Transcurrido el tiempo de incubación, cuente las unidades formadoras de colonias (UFC) desarrolladas sobre la membrana. Identifique las bacterias encontradas cuando salga del límite establecido. Si debido a la cantidad y/o tamaño de UFC desarrolladas no es posible contarlas con facilidad, adicione de 1 a 3 mL de solución de cloruro de Trifenil Tetrazolium al 0.1% sobre la superficie de la membrana, espere unos minutos y decante esta solución sobre un recipiente que contenga desinfectante que este en uso en ese momento. Las UFC adquieren una tonalidad roja. Si conforme a la morfología colonial sospecha la presencia de Pseudomonas, proceda a realizar prueba de oxidasa e identificación bioquímica de las cepas oxidasa positiva. En caso de resultados microbiológicos altos, en el siguiente muestreo (remuestreo), hacer una dilución de manera que sea fácil realizar la cuenta microbiana. Si espera cuentas altas (>300 UFC/ml) filtre 1 ml diluyéndola en aproximadamente 20 ml de agua estéril para una mejor distribución de la muestra en toda la membrana.

Los límites microbiológicos están referidos a una superficie de 25 cm<sup>2</sup> por lo que se tienen que realizar cálculos que nos muestren estas unidades.

Reporte UFC en 25 cm<sup>2</sup> y registre los resultados en los formatos de reporte correspondiente. En caso de presencia de hongos, reporte su presencia, ya que estos son indicativos de contaminación por materia orgánica. Si la cuenta es 0 UFC sustituya en la fórmula 1 en el lugar de UFC muestra y reporte el resultado obtenido con el signo de menor que "<"

Cálculos cuando se ha filtrado el mismo volumen de muestra y blanco:

$$\frac{UFC}{25cm^2} = \frac{(UFC \text{ muestra} - UFC \text{ blanco}) \times \text{vol. de enjuague en mL} \times 25 \text{ cm}^2}{\text{Volumen analizado mL} \times \text{superficie enjuagada en cm}^2}$$

Reporte los resultados en el formato correspondiente si es de validación este será de acuerdo a protocolo de validación de limpieza y deberá entregar el original.

Cuenta de Pseudomonas, usando técnica de filtración a través de membrana.

Realice lo indicado en "cuenta total de bacterias mesofilicas aeróbicas" sólo que filtre 100 ml, emplee el medio de cultivo selectivo de Pseudomonas e incube de 35-37°C por 72 horas.

Transcurrido el tiempo de incubación y si se presenta crecimiento bacteriano, cuente el número de UFC, efectúe la prueba de Oxidasa usando el reactivo Bactident-Oxidasa y resiembre en agar cetrimide y casoy.

#### **Procedimiento para efectuar la Prueba de Oxidasa.**

Investigue independientemente las colonias individuales crecidas sobre la membrana.

Retire con ayuda de un asa desechable, una colonia aislada bien desarrollada.

Coloque dicha colonia sobre la zona de reacción de la varilla y extiéndala.

Espere de 20 a 60 seg y compare la zona de reacción con la escala de color que tiene el reactivo.

En caso de bacterias citocromoxidasa positivos (posible Pseudomonas), la zona de reacción muestra una coloración azul-violeta.

Si se presentan colonias Oxidasa (+), hay crecimiento característico de Pseudomonas en agar cetrimide y casoy, identificar por Vitek para la confirmación de Pseudomonas. Reporte UFC/25 cm<sup>2</sup> calculando el resultado con la fórmula anterior y registre los resultados en los formatos de reporte correspondientes.

#### **Realice el análisis de endotoxinas bacterianas.**

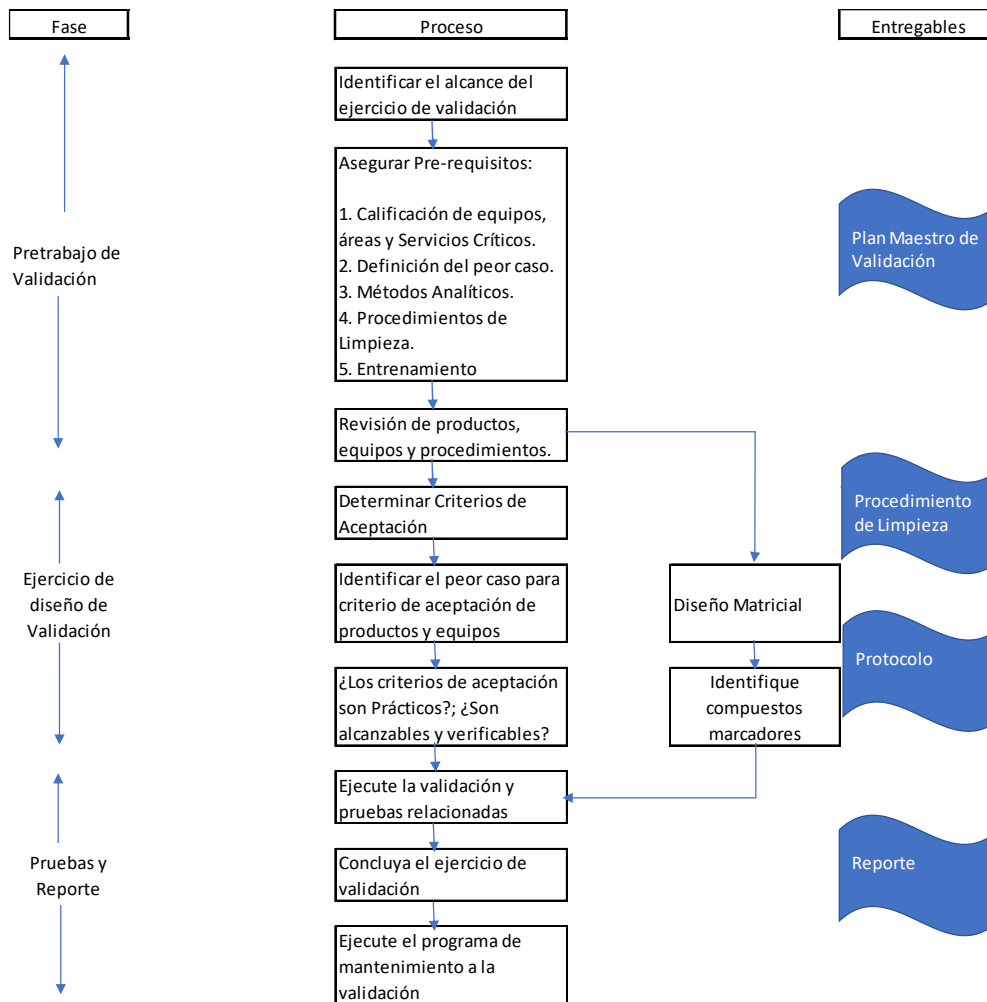
Cuando se rebasan las especificaciones, emita un reporte de resultados fuera de especificación para su investigación y seguimiento e informe de inmediato al responsable de Aseguramiento

de Calidad de planta y Soporte Analítico (en validación de limpieza) para proceder a dejar en cuarentena el equipo hasta que se demuestre que no existe contaminación.

## 8. METODOLOGÍA

De la información presentada, es posible sintetizar escenarios que permitan definir un proceso/procedimiento base para la validación de limpieza en líneas multiproducto:

Figura 2. Proceso/procedimiento base para la validación de limpieza en líneas multiproducto.



### 8.1 Definición de la línea multi-producto y del Peor Caso

Se utilizará una aproximación matricial, que consiste en la definición de un grupo de parámetros y características que será evaluadas para todo el grupo que integra los productos procesados en la línea. En esta matriz se definirá el peor caso. Los siguientes criterios serán utilizados para la consideración:

- PDE
- Solubilidad del Activo.
- Concentración.
- Facilidad de Limpieza.
- Toxicidad.
- Condiciones de Proceso.
- Características del producto y estructura química.

Conforme a lo revisado en capítulos previos y conforme a la validación en estudio, el resultado para la matriz se observa de la siguiente forma:

**Tabla 9.** Características del producto y estructura química (Granulación Húmeda 3).

Granulación Húmeda 3								
Producto	API	PDE (mg/día)	OEB	Puntos x OEB	Sol.	Dificultad de Limpieza	Producto Semejante	Valor Prioridad
Flagyl 500 mg	Metronidazol	30	4	16	3	1	-5	15
Flagyl 250 mg	Metronidazol	30	4	16	3	1	-15	5
Tabalón 400 mg	Ibuprofeno	5000	2	4	8	2	-15	-1
Aciclovir 400 mg	Aciclovir	1500	2	4	8	2	-5	9
Aprovasc 300/10 mg	Irbesartán/ Amlodipino	1000/150	3	9	3	1	-5	8
Aprovasc 300/5 mg	Irbesartán/ Amlodipino	1000/150	3	9	3	1	-15	-2
Aprovasc 150/10 mg	Irbesartán/ Amlodipino	1000/150	3	9	3	1	-15	-2
Aprovasc 150/5 mg	Irbesartán/ Amlodipino	1000/150	3	9	3	1	-15	-2
Secnidazol (500 /900mg)	Secnidazol	100	3	9	3	2	-15	-1

*Para determinar el peor caso, se realizó la suma de todos los factores desde puntos x OEB, solubilidad (Sol.), dificultad de limpieza y productos semejantes, para obtener el valor de prioridad, el valor de prioridad más alto es el peor caso.*

La tabla se estructuró conforme a los criterios de la sección 2.2.2 "Peor caso".

Para el trabajo realizado, el peor caso es el producto Flagyl, con el principio activo metronidazol, al ser OEB 4, reporta una total de 16 puntos por el OEB, el metronidazol es poco soluble (10-100 mL de solvente/ g de activo (fármaco), por tanto, se seleccionó un valor de 3, sobre la solubilidad, se puede observar que los menos solubles son Tabalón y Aciclovir, sin embargo, tienen un OEB de 2, con respecto a productos semejantes para la concentración más alta de Flagyl, se reporta como un caso de composición diferente, esto se debe a que cuando se compara la formulación de Flagyl con las otras formulaciones, se presentan diferencias en los excipientes y por otro lado es el activo con mayor nivel de OEB, en este caso la segunda concentración de Flagyl se considerará como -15, ya que para el arreglo matricial, se cuenta con la existencia del de concentración superior.

## 8.2 Cálculo de los límites máximos permitidos para el peor caso

Conforme a lo revisado, se identificó que la validación de limpieza requiere de especificaciones de 2 tipos:

- Análisis inespecíficos. Que se realizarán para comprobar la calidad del agua de enjuague, el agua de enjuague siempre corresponde al grado de agua utilizado en el proceso de manufactura, esto es para prevenir cualquier tipo de contaminación que pudiera ocurrir por utilizar un agua de menor grado de pureza para los procesos de limpieza, en procesos de forma farmacéuticas solidas, el agua utilizada es purificada. Conforme a lo anterior, para los análisis inespecíficos, las especificaciones de las pruebas requeridas a cumplir conforme a FEUM 13 (MGAs 0196 - Conductividad, 0701-pHy 0146- TOC) vigente son:
- Pruebas Fisicoquímicas:
  - Apariencia Física del agua de enjuague: Líquido incoloro, inodoro y libre de partículas.
  - PH: 5.0 -7.0

- Conductividad:
  - Etapa 1: 1.3  $\mu\text{S}/\text{cm}$
  - Etapa 2: 2.1  $\mu\text{S}/\text{cm}$
- Microbiológicas:
  - Cuenta de Bacterias
  - Cuenta de Hongos y Levaduras.

Análisis Específicos. En estos análisis las trazas de activo y detergentes residuales después de haber ejecutado el proceso de limpieza cobran relevancia, se trata de comprobar que el proceso de limpieza fue eficaz en remover estas trazas.

Si se tratara de formas farmacéuticas sólidas, además debería determinarse la presencia de Pseudomonas y para el caso de productos inyectables endotoxinas.

- Análisis de Trazas de Activos:

Esto se realizará siguiendo los límites de cálculo abordados en el presente trabajo para el caso más retador, se comparará el criterio de dosis terapéutica establecido por FDA, el criterio PDE y el LD50, el más estricto de los 3 resultará como el límite de traza aceptable para el criterio de aceptación en la validación de limpieza. Los límites deberán tener en consideración los materiales de construcción de los equipos, estos son relevantes para los cálculos de recuperación de trazas.

Los límites adecuados y especificaciones pueden calcularse a partir de las formulas y aproximaciones discutidas en la sección 2.2.3, para hacer el cálculo se consideraron las 3 aproximaciones sugeridas y así poder tomar el límite más estricto como especificación. Cabe aclarar que para esta aproximación se consideraron 2 valores para PDE, el primero de los valores fue teórico suponiendo el PDE a partir de cálculo utilizando su valor de OEB, el segundo valor de PDE fue determinado experimentalmente, este segundo valor es más adecuado, ya

que los experimentos dan una mayor certeza al aplicar concentraciones conocidas del activo en organismos vivos y medir su respuesta, a continuación, se resumen los resultados obtenidos:

**Tabla 10.** Análisis de Trazas de Activos 1.

PRODUCTO	API	PDE Exp reporte sanofi (µg/día)	Dosis mínima en g/día	dosis mínima en mg	OEB	OEL (µg/m <sup>3</sup> )	PDE teórico (µg/día)	L dosis mín terapeutica 1/1000 (µg/día)
<b>Flagyl comp 500mg 250mg</b>	<b>Metronidazol</b>	<b>506</b>	<b>0.5</b>	<b>500</b>	<b>4</b>	<b>3</b>	<b>30</b>	<b>500</b>
Aprovasc 300/10 tab	Amlodipino besilato	62.5	<b>0.005</b>	5	3	15	150	5
Aprovasc 300/5, 150/10-5 tab	Irbesartan	15000	<b>0.15</b>	150	3	100	1000	150
Aciclovir 400-200 mg tab	Aciclovir	21	<b>0.2</b>	200	2	150	1500	200
Secnidal comp. 500 mg	Secnidazol	1.5	<b>1</b>	1000	3	10	100	1000
Secnidal polvo 500-900mg	Secnidazol	1.5	<b>0.9</b>	900	3	10	100	900
Tabalon tabletas	Ibuprofeno	100	<b>0.2</b>	200	2	500	5000	200

En esta tabla la primera columna corresponde al nombre del producto, la segunda columna al nombre del principio activo, la tercera columna refiere el valor de PDE determinado por Sanofi de manera experimental, la cuarta columna expresa la dosis terapéutica mínima en gramos por día, la quinta columna refiere la conversión de gramos a miligramos, la sexta columna hace referencia al OEB, que es determinado por medio de la literatura, el OEL es una correspondencia del PDE, para un OEB4, el valor de OEL va entre 1 y 10, se puede observar que Flagyl se encuentra en un valor de 3, los OEB3, pueden encontrarse con OEL entre 10 y 100, puede observarse que para el producto Aprovasc en el principio activo Amlodipino el OEB es de 15, mientras que para Irbesartán es de 100, para los OEB2, el OEL puede variar entre 100 y 1000, se puede observar que el OEL de elbuprofeno es 500. El cálculo del PDE teórico se estima a través de la fórmula:

$$PDE = OEL \text{ mg/m}^3 \times 10 \text{ m}^3$$

Los 10 metros cúbicos se estiman como convención, alguna literatura refiere, que una persona promedio puede respirar alrededor de 10m<sup>3</sup> en 24 horas, tomando como base que la persona respirara 7.5 L/min, en un espacio de 24 horas, son alrededor de 10,800 L. Para el cálculo de la dosis mínima, simplemente se divide entre 1000.



Tabla 11. Análisis de Trazas de Activos 2.

PRODUCTO	Lim exposición		Producto con que se compara	Min tamaño lote + pequeño Prod B (g).	Lote prod A en Kg	Maxima dosis diaria Prod B (g/day)	Peso prom tab Máxima dosis prod B (g/dia)	Superficie de equipo (cm2)
	PDE teorico (µg/dia)	L dosis min terapeutica 1/1000 (µg/dia)						
<b>Flagyl comp 500mg 250mg</b>	<b>30</b>	<b>500</b>	<b>c-Aprovasc tab</b>	<b>200000</b>	<b>500</b>	<b>0.016</b>	<b>0.52</b>	<b>431398.79</b>
Aprovasc 300/10 tab	150	5	c-Aprovasc tab	88000	200	0.016	0.52	414757.63
Aprovasc 300/5, 150/10-5 tab	1000	150	c-Aprovasc tab	88000	200	0.016	0.52	414757.63
Aciclovir 400-200 mg tab	1500	200	c- amlodipino	100000	450	0.016	0.52	114637.53
Secnidal comp. 500 mg	100	1000	c-Aprovasc tab	88000	270	0.016	0.52	328152.26
Secnidal polvo 500-900mg	100	900	c-Aprovasc tab	88000	300	0.016	0.52	328152.26
Tabalon tabletas	5000	200	c-Aprovasc tab	88000	383	0.016	0.52	392801

Tabla 12. Análisis de Trazas de Activos 3.

PRODUCTO	API	Producto con que se compara	HBEL Limite (µg/cm <sup>2</sup> ) lim expe	HBEL Limite calculado (µg/cm <sup>2</sup> )	Peso promedio HBEL Limite (µg/cm <sup>2</sup> )	L1 LDT (Lim. Dosis Terapéutica) Dosis	L2 Limite 0.1% dosis terap (µg / cm2)	Limite actual x LD50 (µg / cm <sup>2</sup> )
<b>Flagyl comp 500mg 250mg</b>	<b>Metronidazol</b>	<b>c-Aprovasc tab</b>	<b>451.1</b>	<b>869.3</b>	<b>26.75</b>	<b>3.125E-02</b>	<b>4.64</b>	<b>2</b>
Aprovasc 300/10 tab	Amlodipino besilato	c-Aprovasc tab	828.8	1989.1	61.20	3.125E-04	2.12	-
Aprovasc 300/5, 150/10-5 tab	Irbesartan	c-Aprovasc tab	198911.3	13260.8	408.02	9.375E-03	2.12	-
Aciclovir 400-200 mg tab	Aciclovir	c- amlodipino	1144.9	81779.5	2516.29	1.250E-02	8.72	-
Secnidal comp. 500 mg	Secnidazol	c-Aprovasc tab	25.1	1676.1	51.57	6.250E-02	2.68	2
Secnidal polvo 500-900mg	Secnidazol	c-Aprovasc tab	25.1	1676.1	51.57	5.625E-02	2.68	2
Tabalon tabletas	Ibuprofeno	c-Aprovasc tab	1400.2	70010.0	2154.15	1.250E-02	2.24	2

Los valores de PDE tanto teórico, como experimental, servirán para realizar los cálculos de HBEL, mediante la siguiente formula:

$$HBEL = \frac{PDE \times \text{tamaño mínimo de lote Prod B}}{\text{Máxima dosis diaria B} \times \text{Superficie del equipo}}$$

Los límites se calculan siguiendo las formulas de la sección 2.2.3, en este punto es posible verificar que el valor establecido con LD50, sigue siendo el límite más retador para determinar ausencia de trazas.

Conforme a esto 2mg/cm<sup>2</sup> es la especificación establecida.

- Análisis de Trazas de Detergentes:

Un agente de limpieza estándar es aquel cuyo componente más tóxico tienen un LD50 mayor a 100mg/kg, cualquier agente de limpieza con componentes debajo de este valor, se denominan de bajo LD50. El requisito de determinar potenciales trazas de detergente aplica a todas las superficies en contacto directo con producto.

Para el caso de detección de trazas de detergentes, se cuenta con análisis inespecíficos, estos se hacen mediante prueba de TOC, estableciendo límites con base en el LD50 reportado para el componente principal de la formulación del detergente y de los sanitizantes. Para la validación de limpieza en estudio, tenemos los siguientes límites:

- Para trazas de detergente de un agente estándar, el promedio de residuo encontrado del componente mayor presente en la formulación no debe exceder 200  $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$ .
- Para trazas de detergente de un agente de bajo LD50, el promedio de residuo encontrado del componente mayor presente en la formulación no debe exceder 100  $\mu\text{g}/100\text{cm}^2$
- Para residuos individuales de otros componentes del detergente:
  - Para agentes de limpieza estándar no se deben exceder 400  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .
  - Para agentes de limpieza de bajo LD50 no se deben exceder 200  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

Los detergentes y desinfectantes utilizados en esta validación son:

- Detergente Bactium Alcalino, sus componentes son:
  - Lauril Sulfato de Sodio
  - Éter Nonil Fenol
  - Polietilenglicol
  - Hidróxido de Potasio

La hoja de seguridad del detergente no refiere los porcentajes de cada uno de los componentes que integran la fórmula, sin embargo, refiere un LD50 > 2000 mg/Kg.

Conforme a esta información es posible clasificar el Detergente Bactium Alcalino como un agente de limpieza estándar y establecer un límite de:

Carbón Orgánico Total (TOC) Residuos de Agentes de Limpieza Bactium Alcalino	Límite individual en cada punto muestreado para el agente de limpieza en superficies de equipo es de: $\leq 400\mu\text{g}/100\text{cm}^2 = 4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ En Área solamente se realizará: Informativo
--	--

- Desinfectante Bacticut, sus componentes son:
  - Alquil Bencil Dimetil Amonio

La hoja de seguridad del desinfectante no refiere si el componente es puro o en porcentaje de dilución con algún otro componente que integran la fórmula, sin embargo, refiere un  $\text{LD}_{50} > 350 \text{ mg/Kg}$ . Conforme a esta información es posible clasificar el Desinfectante Bacticut, como un agente de limpieza estándar y establecer un límite de:

Carbón Orgánico Total (TOC) Residuos de Agentes de Limpieza Bactium Alcalino	Límite individual en cada punto muestreado para el agente de limpieza en superficies de equipo es de: $\leq 400\mu\text{g}/100\text{cm}^2 = 4 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ En Área solamente se realizará: Informativo
--	--

### 8.3 Plan y puntos de muestreo

En la verificación de los procesos de limpieza de equipos y áreas primero debe realizarse una inspección visual detallada como mínimo, en áreas y equipos, la cual consiste en: Verificar que no existan residuos visibles en todas aquellas superficies del equipo, que estén en contacto directo con el producto y que son de difícil acceso; así como polvo libre en las partes que no estén en contacto con el producto y que pudieran, ocasionar contaminación cruzada.

El personal que la ejecuta la verificación debe registrar en la bitácora del equipo/área (con fecha y firma) la inspección visual realizada y si no se cumple con la misma, se deberá investigar que salió mal en el proceso de limpieza.

Para realizar un muestreo de trazas en un equipo debe tenerse establecido un plan de muestreo y el tipo (hisopo o enjuague) de muestreo que aplica en cada punto del equipo, durante el proceso de validación de limpieza, éste se indicará en el protocolo de validación del proceso de limpieza del área de granulación húmeda III.

Esto se realizará mediante la evaluación de la geometría y los materiales de construcción de los equipos, seleccionando las zonas de fácil y difícil acceso, teniendo principalmente en consideración las superficies del equipo que tienen contacto directo con el producto. Adicional al criterio fisicoquímico también se considerará el criterio microbiológico que evaluará que microorganismos y endotoxinas se encuentren en límites aceptables.

El plan de muestreo se detalla a continuación:

Tabla 13. Plan de muestreo.

#	Área / Equipo (Localización)	Muestras para Análisis de Detergente	Muestras para el Control Microbiológico	Muestras para trazas de principio activo
1	<b>Mezclador Gea PMA800 (MZ05) Tapa</b>	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
2	PMA800: Aspas	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
3	PMA800: Ducto de salida	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
4	<b>Molino Quadro Comil (ML08): Tamiz</b>	Hisopo hum c/agua	Hisopo	Hisopo hum c/solvente
5	Impulsor	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
6	Tubería de salida	Hisopo hum c/agua	Hisopo	Hisopo hum c/solvente
7	<b>Secador Aeromatic T/SG6 (SC05): pared-mirilla</b>	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
8	Secador: pared	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
9	Tina del secador: pared	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
10	Tina de secador: Fondo	Hisopo hum c/agua	Hisopo	Hisopo hum c/solvente
11	<b>Granulador Frewitt Coniwit (ML09): Tamiz</b>	Hisopo hum c/agua	Hisopo	Hisopo hum c/solvente
12	Cilindro de unión	Hisopo hum c/agua	Hisopo	Hisopo hum c/solvente
13	Manguera azul de conexión	Enjuague c/3L	Enjuague c/3L	Hisopo hum c/solvente
14	Manguera blanca de conexión	Enjuague c/3L	Enjuague c/3L	Hisopo hum c/solvente
15	Área GH 3: pared	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente
16	Área GH 3: piso	Hisopo hum c/agua	Placa	Hisopo hum c/solvente

Puntos importantes:

- Como fue referido en la sección de materiales, los hisopos utilizados serán de poliéster Texwipe TX714A.

- Las muestras de TOC se colectarán con la última agua de enjuague, que por la clasificación de los procesos del área corresponde a agua purificada.
- Las muestras de residuos de fármaco en tubo de ensayo con 5mL con Metanol.
- En microbiología el hisopo es humedecido con medio de cultivo muestrear una superficie de 5x5cm<sup>2</sup>.

Figura 3. Puntos de muestreo de Mezclador Gea PMA800 y Molino Quadro Comil.

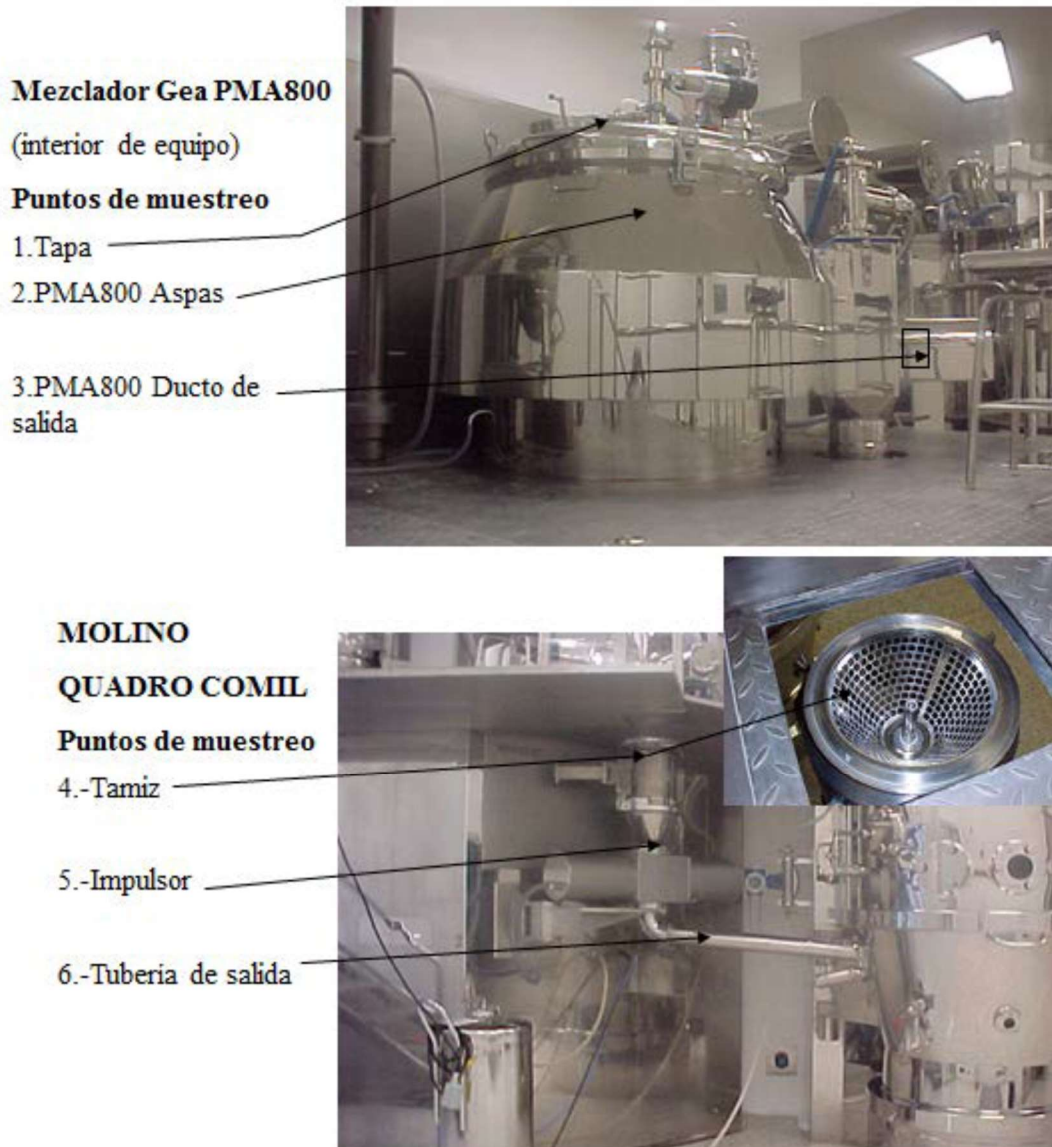
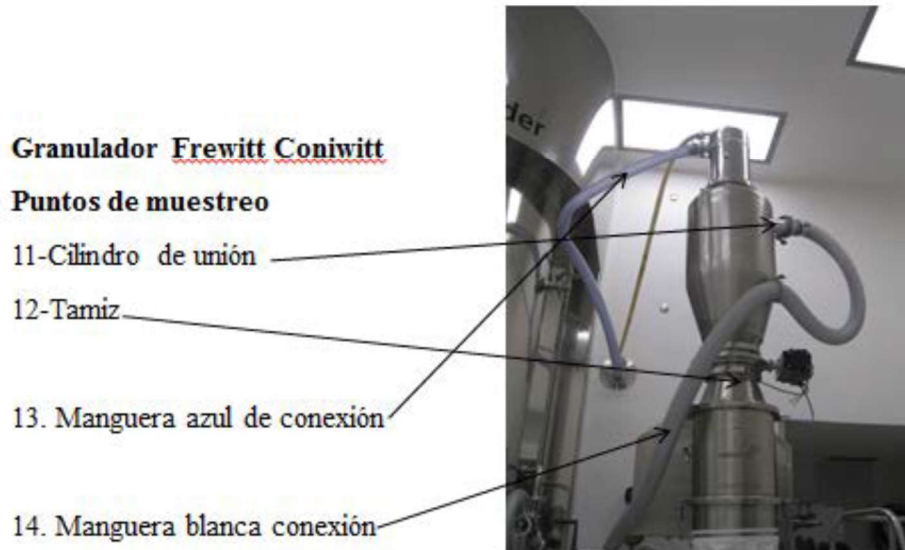
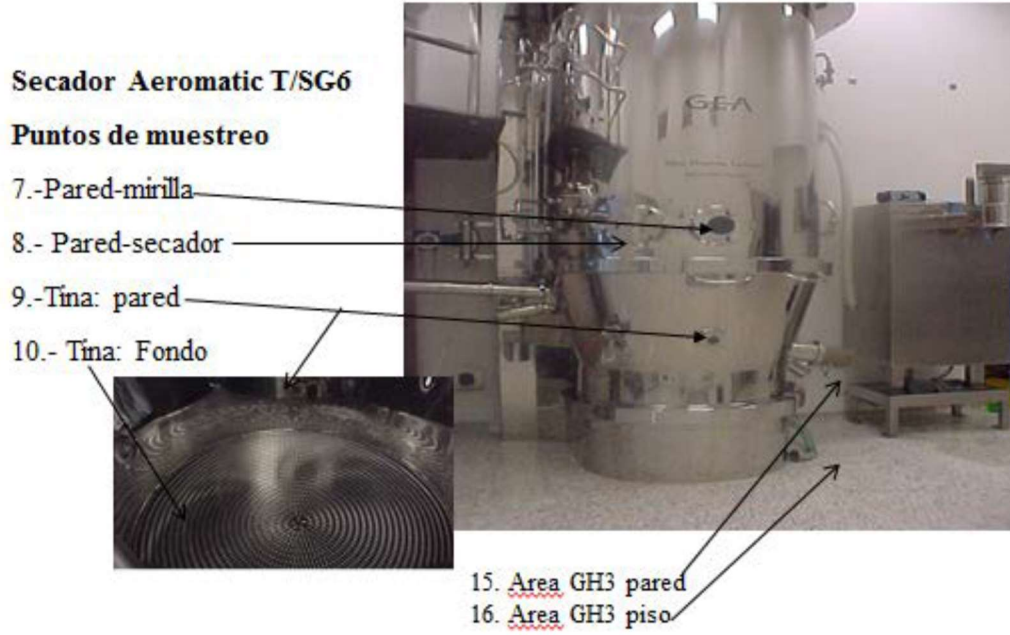


Figura 4. Puntos de muestreo de Secador Aeromatic T/SG6



### 8.3.1 Metodología para realizar el muestreo:

Se deberá aplicar el procedimiento de limpieza y evaluar el cumplimiento del proceso con respecto a los criterios de aceptación establecidos.

Después de haber ejecutado la inspección visual del área y del equipo, conforme a lo indicado anteriormente, si el equipo se encuentra libre de trazas visibles, se puede realizar la toma de muestras para las determinaciones requeridas, la toma de muestras se realiza sobre la superficie de los equipos limpios y secos en los puntos que fueron indicados en el plan de muestreo. A continuación, se describen las diferentes técnicas para la toma de muestras:

- **Técnica de swab o Hisopo (Método Directo), para muestras de análisis químico.**

a) El primer paso es la preparación para la toma de la muestra que requiere la colocación de guantes de nitrilo, estos guantes son importantes para prevenir la potencial contaminación de la muestra y también son una protección para el muestreador contra potenciales trazas de activo.

b) Se utilizan hisopos de poliéster Texwipe TX714A. Los hisopos no requieren ninguna preparación previa a la prueba. Esto se debe a que la clasificación de área del cuarto de Granulación húmeda 3, permite el acceso de este tipo de material sin impacto para las operaciones, siempre es necesario verificar los requisitos de ingreso a las áreas conforme a su clasificación para la manufactura de productos farmacéuticos. Por ejemplo, en el caso de áreas de manufactura aséptica si pudiera haberse requerido la esterilización de los hisopos.

c) El solvente utilizado para saturar los hisopos será metanol para las trazas de activo y agua para las trazas de detergente.

d) Se utiliza el marco de acrílico para delimitar la zona de muestreo (100 cm<sup>2</sup>), en caso de que no se consiguiera un marco de ese tamaño, se puede trabajar con uno más pequeño, si fuera el caso, se realizan un número de repeticiones hasta conseguir la superficie requerida para la muestra.

e) Se humedece el hisopo y se toma firmemente, se frota sobre la superficie de muestreo en un sentido, con una de las caras del hisopo hasta cubrir toda el área. Luego, con la otra cara del mismo hisopo, se frota horizontalmente sobre la misma área. Finalmente se coloca el hisopo en el tubo o frasco debidamente etiquetado y se tapa.



f) El procedimiento se repite en el muestreo de cada uno de los diferentes puntos de establecidos en el plan de muestreo. Se deben colocar en frascos diferentes los hisopos de equipos y área. Esto de acuerdo con el material proporcionado.

g) En superficies donde no sea posible usar la base de acrílico, por ser un área irregular, se puede estimar de acuerdo con las dimensiones de la pieza del área a muestrear buscando que la superficie sea lo más cercano a  $100 \text{ cm}^2$ .

h) Se deberá identificar un frasco o tubo como blanco, el cual debe contener el solvente o agua purificada, se adiciona un hisopo y se tapa. Este se utiliza para comprobar que los tubos y los solventes no representaban un problema para la muestra. (antes de llenar con el solvente el frasco o tubo del blanco, se debe enjuagar el número de veces requerido, para garantizar la ausencia de potenciales contaminantes, para el caso del presente ejercicio se hicieron 4 enjuagues).

i) Conforme a la técnica las muestras deben permanecer en refrigeración o temperatura ambiente hasta su análisis.



- **Técnica de Rinse o Enjuague (Método Indirecto), para muestras de análisis químico o microbiológico.**

Este método generalmente se usa en equipos de gran volumen y en lugares inaccesibles o cuyo armado/desarmado pueda significar un daño al equipo. La ventaja de este método es que pueden enjuagarse grandes superficies de un equipo. Si el agente es insoluble esto puede significar un riesgo ya que las partículas pueden quedar físicamente ocluidas en el equipo. Esta técnica de muestreo es complementaria de la técnica de hisopo.

a) Al igual que la técnica de muestreo por hisopo. El primer paso es la preparación para la toma de la muestra que requiere la colocación de guantes de nitrilo.

b) El solvente usado para realizar los enjuagues será agua purificada (para la prueba de TOC y microbiología).

c) Se etiqueta cada tubo o frasco igual que lo indicado en la técnica del "hisopo"

d) Se realiza el enjuague de la jarra limpia con agua purificada de la toma de agua que se encuentre en el sitio de muestreo: Se llena la jarra a la mitad de su capacidad, tocando con el agua purificada, todas las paredes de esta y el agua se deshecha. Se realiza esta operación 2 veces. Finalmente se llena la jarra por arriba de la marca indicada en el plan de muestreo (la cantidad depende de la dimensión del equipo: mangueras, tuberías o Reactor-Tanque: podría ser desde 1L a 10L), cubra la jarra y vaya al sitio de muestreo, vierta el agua purificada que lleva en exceso en el frasco identificado como blanco.

e) El enjuague debe realizarse en la parte interior del equipo o pieza, en el caso de las mangueras que son muy delgadas debe adicionarse el agua con una jarra pequeña adecuada a la entrada.

- f) Dirija el enjuague con el solvente por medio de la jarra o manguera por toda la superficie del equipo tratando de abarcar toda la superficie interior a muestrear, adicione con fuerza, si es posible con movimientos descendentes y ascendentes.
- g) Para muestrear el Reactor-Tanque, se debe tomar el agua de enjuague a la salida, es necesario coleccionar, un volumen representativo del enjuague en el frasco previamente identificado. En caso de que la válvula tenga posición horizontal el piso se protege de derrames con una cubeta o bolsa de plástico. Se colecciona la muestra en el frasco identificado y se tapa.
- h) Para mangueras se debe verter agua purificada de la jarra sobre la superficie interna de la manguera para muestrear, cuando las mangueras son largas se debe agitar el agua purificada, en la misma manguera y entonces se recibe el agua de enjuague directamente en el frasco. Si son pequeñas se recibe en una jarra y ahí se pasa a cada contenedor de la muestra (frasco identificado), se tapa y se identifica para pasarlo a análisis.
- i) Para los filtros o mangas que son por enjuague tome una sección de aproximadamente  $100\text{cm}^2$  y con el volumen de 200 mL en el frasco, se tapa y agita a modo que se enjuague la sección, se debe considerar el volumen de enjuague y la superficie muestreada.
- j) Para mallas o tamices, se introducen a la jarra con el volumen de agua indicado para el enjuague, el agua debe tocar toda la superficie de la malla al término se sacude para eliminar el exceso de agua y se colecciona la muestra en el frasco identificado para esta pieza.
- k) Para el muestreo de residuos de fármaco, se adiciona un volumen de metanol en la malla o tamiz y se colecciona en una tina, posteriormente se sacude el exceso de solvente y se trasvasa el enjuague al tubo de ensayo. Se debe considerar el volumen inicial del solvente para el cálculo de residuos.

- **Técnica de placas de contacto para análisis microbiano.**

Se siguen las técnicas señaladas en los procedimientos de microbiología y también las referidas en las FEUM 12. Vol 1 pp.728

Todas las muestras tomadas (hisopo, enjuague y microbiología) se llevaron al laboratorio de control fisicoquímico y microbiológico, para ser analizadas.

#### **8.4 Ejecución del proceso de limpieza; verificación de parámetros y toma de muestras**

Para la generación del protocolo y la definición de los puntos de muestreo se considerará:

- El equipo de proceso cubierto por la validación de limpieza donde el equipo es utilizado en manufactura.
- Los procedimientos de limpieza del equipo: revisión de los procedimientos de limpieza, previo al arranque del ejercicio de validación para asegurar su coherencia y que incluyen todos los equipos y productos.
- El procedimiento de limpieza del área de manufactura.
- Los diagramas de flujo del proceso.
- Revisión de los productos para identificar las propiedades de cada componente.
- Revisión del equipo, para identificar que se encuentra ligado con la validación de limpieza. Es adecuado contar con un listado que detalle:
  - Equipo en contacto directo con producto.
  - Equipo en contacto indirecto.
- Especificar las localizaciones de lugares difíciles de limpiar debido a su accesibilidad.
- El riesgo microbiológico.

Conforme a lo anterior, los parámetros colectados para el proceso de limpieza se definieron y se llevó a cabo el registro de dichos parámetros durante el ejercicio de validación:

Tabla 14. Parámetros registrados durante el ejercicio de validación.

Parámetros de la Limpieza	1er Muestreo	2do Muestreo	3er Muetsreo
Tiempo de Limpieza	20 hrs	15 hrs	10 hrs
Detergente Evaluado	Bactium Alcalino	Bactium Alcalino	Bactium Alcalino
Concentración del Detergente	10%	10%	10%
Temperatura de la Solución	Ambiente	Ambiente	Ambiente
Tiempo de Contacto del Detergente con el equipo	30 minutos	30 minutos	30 minutos
Número de enjuagues o Tiempo de Enjuague del Equipo	10 minutos	10 minutos	10 minutos
Recetas Usadas para Limpieza Automática	PW Final 30 minutos	PW Final 30 minutos	PW Final 30 minutos
Número y tiempos de Enjuague por piezas	1 por 10 minutos	1 por 10 minutos	1 por 10 minutos
Desinfectante Evaluado	Baticuat 10 al 1.2%	Baticuat 10 al 1.2%	Baticuat 10 al 1.2%
No. de Operadores que realizaron la Limpieza	2	2	2
Tiempo de espera equipo sucio	18 horas	18 horas	18 horas
Número de Lotes Fabricados	6	7	6
Tiempo de Fabricación	7 días	10 días	5 días

### 8.5 Análisis de Resultados

Los resultados esperados se analizarán con base en el criterio de aceptación establecido en el método y se realizará un análisis estadístico para concluir sobre la efectividad de la limpieza, empleando las técnicas estadísticas de ANOVA, las variables seleccionadas serán las que producen resultados discretos continuos: TOC, pH y Conductividad. El análisis de las variables permitirá concluir si el método de limpieza diseñado es robusto y consistente.

## 9. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Conforme a la metodología establecida se realizaron las pruebas seleccionadas en el plan de muestreo del equipo, área y accesorios, a continuación, se detallan los resultados de cada una de las pruebas:

- TOC:

Tabla 15. TOC.

#	Área / Equipo (Localización)	TOC Individual											
		Especificación <= 400 µg/100 cm <sup>2</sup>											
		1er	1er	2do	2do	3er	3er	3er	3er	3er	3er	3er	
1	Mezclador Gea PMA800 (MZ05) Tapa	0.3099	2.728088	0.313	3.809916	0.08544	20.0937792	0.1435	33.74833	0.1696	14.298944	0.1663	6.843738
2	PMA800: Aspas	0.3143	3.76288	0.3288	7.52576	0.1872	0.23518	0.1923	7.690386	0.1679	13.899138	0.1742	8.70166
3	PMA800: Ducto de salida	0.3368	9.05443	0.3508	12.69972	0.2686	19.378832	0.283	22.765424	0.1476	9.124984	0.1686	7.384652
4	Molino Quadro Comil (ML08): Tamiz	0.2972	69.895496	0.3241	6.420414	0.2779	21.566006	0.2658	18.720328	0.1732	15.145592	0.1879	11.923626
5	Impulsor	0.1941	45.648438	0.2004	47.130072	0.4125	53.221234	0.4064	51.786636	0.1956	20.413624	0.2046	15.851132
6	Tubería de salida	0.2175	51.15165	0.2253	52.986054	0.2698	19.661048	0.2659	18.743846	0.1598	11.99418	0.1586	5.032852
7	Secador Aeromatic T/SG6 (SC05): pared-mirilla	0.3014	0.729058	0.3167	4.680082	0.3014	27.092736	0.3167	30.69099	0.1304	5.079888	0.1390	0.423324
8	Secador: pared	0.3099	2.728088	0.313	3.809916	0.2076	5.032852	0.1758	3.809916	0.2012	21.730632	0.2070	16.415564
9	Tina del secador: pared	0.3127	3.386592	0.3188	5.17396	0.3127	29.75027	0.3188	31.184868	0.2389	30.596918	0.2127	17.75609
10	Tina de secador: Fondo	0.2804	65.944472	0.2854	67.120372	0.2804	22.153956	0.2854	23.329856	0.1789	16.486118	0.1817	10.46551
11	Granulador Frewitt Coniwit: (ML09): Tamiz	0.2148	50.516664	0.2251	52.939018	0.2148	6.726148	0.2251	9.148502	0.1480	9.219056	0.1404	0.752576
12	Cilindro de unión	0.1971	46.353978	0.2084	49.011512	0.1917	1.29349	0.2084	5.220996	0.4006	68.625524	0.4050	62.981204
13	Manguera azul de conexión	1.447	105.205092	1.446	105.250885	1.447	115.471908	1.446	117.816515	0.6195	120.106426	0.6150	112.369004
14	Manguera blanca de conexión	1.101	73.5162598	1.104	73.9283978	1.101	83.7830752	1.104	86.4940274	0.6861	135.769414	0.7089	134.452406
15	Área GH 3: pared	0.7782	43.9522276	0.8005	46.1319797	0.7782	54.219043	0.8005	58.6976092	0.8936	184.569264	0.8880	176.573144
16	Área GH 3: piso	0.4128	10.4866223	0.4211	11.3841673	0.4128	20.7534377	0.4211	23.9497969	0.8358	170.97586	0.8528	168.294808
	Blanco	0.2983		0.2968		0.1862		0.1596		0.1088		0.1372	

- Conductividad, PH y formación de espuma:

Tabla 16. Conductividad, PH y formación de espuma.

#	Área / Equipo (Localización)	Conductividad			PH			Formación de Espuma (Ausencia de Espuma)		
		Especificación: 1er <1.3mS/cm; 2do<2.1 mS/cm; 3er: PH Área: Informativo			Límite: 5.0 -7.0 Área: Informativo					
		1er	2do	3er	1er	2do	3er	1er	2do	3er
1	Mezclador Gea PMA800 (MZ05) Tapa	1.1	1	1.2	5.6	5.9	5.6	Cumple	Cumple	Cumple
2	PMA800: Aspas	1.1	0.9	1.2	5.6	5.7	5.6	Cumple	Cumple	Cumple
3	PMA800: Ducto de salida	1.3	1	1.1	5.6	5.7	5.6	Cumple	Cumple	Cumple
4	Molino Quadro Comil (ML08): Tamiz	1.3	0.9	1.2	5.6	6	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
5	Impulsor	1.5	1	1.2	5.6	5.7	5.6	Cumple	Cumple	Cumple
6	Tubería de salida	1.5	1	1	5.5	5.9	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
7	Secador Aeromatic T/SG6 (SC05): pared-mirilla	1.9	1	1.2	5.4	5.7	5.5	Cumple	Cumple	Cumple
8	Secador: pared	1.8	1	1.3	5.5	5.7	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
9	Tina del secador: pared	1.3	1.1	1	5.6	5.7	5.6	Cumple	Cumple	Cumple
10	Tina de secador: Fondo	1.3	1	1.2	5.5	5.8	5.6	Cumple	Cumple	Cumple
11	Granulador Frewitt Coniwit: (ML09): Tamiz	1.3	1	1	5.5	5.8	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
12	Cilindro de unión	1.3	1	1.3	5.6	6.1	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
13	Manguera azul de conexión	1.3	2	1.2	5.6	5.4	6.3	Cumple	Cumple	Cumple
14	Manguera blanca de conexión	1.5	1.5	1.2	5.4	5.6	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
15	Área GH 3: pared	7.1	2.1	2	5.6	5.7	5.7	Cumple	Cumple	Cumple
16	Área GH 3: piso	2.7	1.7	1.7	6.3	6	6	Cumple	Cumple	Cumple

- Trazas de activo y detergente:

Tabla 17. Trazas de activo y detergente.

#	Área / Equipo (Localización)	Resultados de Metronidazol Límite individual en equipo $\leq 1.7 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Límite de cuantificación = $0.30 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ Límite de Detección = $0.05 \mu\text{g}/\text{cm}^2$		
		1er	2do	3er
1	<b>Mezclador Gea PMA800 (MZ05) Tapa</b>	No Detectable	No Detectable	No Detectable
2	PMA800: Aspas	No Detectable	No Detectable	No Detectable
3	PMA800: Ducto de salida	No Detectable	No Detectable	No Detectable
4	<b>Molino Quadro Comil (ML08): Tamiz</b>	No Detectable	No Detectable	No Detectable
5	Impulsor	No Detectable	No Detectable	No Detectable
6	Tubería de salida	No Detectable	No Detectable	No Detectable
7	<b>Secador Aeromatic T/SG6 (SC05): pared-mirilla</b>	No Detectable	No Detectable	No Detectable
8	Secador: pared	No Detectable	No Detectable	No Detectable
9	Tina del secador: pared	No Detectable	No Detectable	No Detectable
10	Tina de secador: Fondo	No Detectable	No Detectable	No Detectable
11	<b>Granulador Frewitt Coniwit: (ML09): Tamiz</b>	No Detectable	No Detectable	No Detectable
12	Cilindro de unión	No Detectable	No Detectable	No Detectable
13	Manguera azul de conexión	No Detectable	No Detectable	No Detectable
14	Manguera blanca de conexión	No Detectable	No Detectable	No Detectable
15	Área GH 3: pared	No Detectable	No Detectable	No Detectable
16	Área GH 3: piso	No Detectable	0.3	0.8

- Resultados microbiológicos: **Tabla 18.** Resultados microbiológicos.

#	Área / Equipo (Localización)	RESULTADOS de MICROBIOLOGIA		RESULTADOS de MICROBIOLOGIA		RESULTADOS de MICROBIOLOGIA	
		Muestreo 1		Muestreo 2		Muestreo 3	
		Bacterias alerta ≤ 50 ufc/25cm2 accion ≤ 100 ufc/25cm2	Hongos y Levaduras alerta ≤ 1ufc/25cm2 accion ≤ 2ufc/25cm2	Bacterias alerta ≤ 50 ufc/25cm2 accion ≤ 100 ufc/25cm2	Hongos y Levaduras alerta ≤ 1ufc/25cm2 accion ≤ 2ufc/25cm2	Bacterias alerta ≤ 50 ufc/25cm2 accion ≤ 100 ufc/25cm2	Hongos y Levaduras alerta ≤ 1ufc/25cm2 accion ≤ 2ufc/25cm2
1	<b>Mezclador Gea PMA800 (MZ05) Tapa</b>	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
2	PMA800: Aspas	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
3	PMA800: Ducto de salida	< 1	< 1	2	< 1	< 1	< 1
4	<b>Molino Quadro Comil (ML08): Tamiz</b>	2	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
5	Impulsor	1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
6	Tubería de salida	1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
7	<b>Secador Aeromatic T/SG6 (SC05): pared-mirilla</b>	5	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
8	Secador: pared	4	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
9	Tina del secador: pared	7	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
10	Tina de secador: Fondo	2	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
11	<b>Granulador Frewitt Coniwit: (ML09): Tamiz</b>	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
12	Cilindro de unión	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
13	Manguera azul de conexión	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
14	Manguera blanca de conexión	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
15	Área GH 3: pared	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1
16	Área GH 3: piso	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1	< 1

Una vista preliminar de los resultados, indica que todas las pruebas cumplen los criterios establecidos en el protocolo de prueba, se decidió correr un análisis estadístico con el propósito de tener mayores observaciones sobre el proceso de limpieza. Las variables seleccionadas fueron: TOC, Conductividad y PH, estas variables se seleccionaron debido a que las pruebas producen resultados continuos y esto permite mayores posibilidades para la estadística descriptiva.

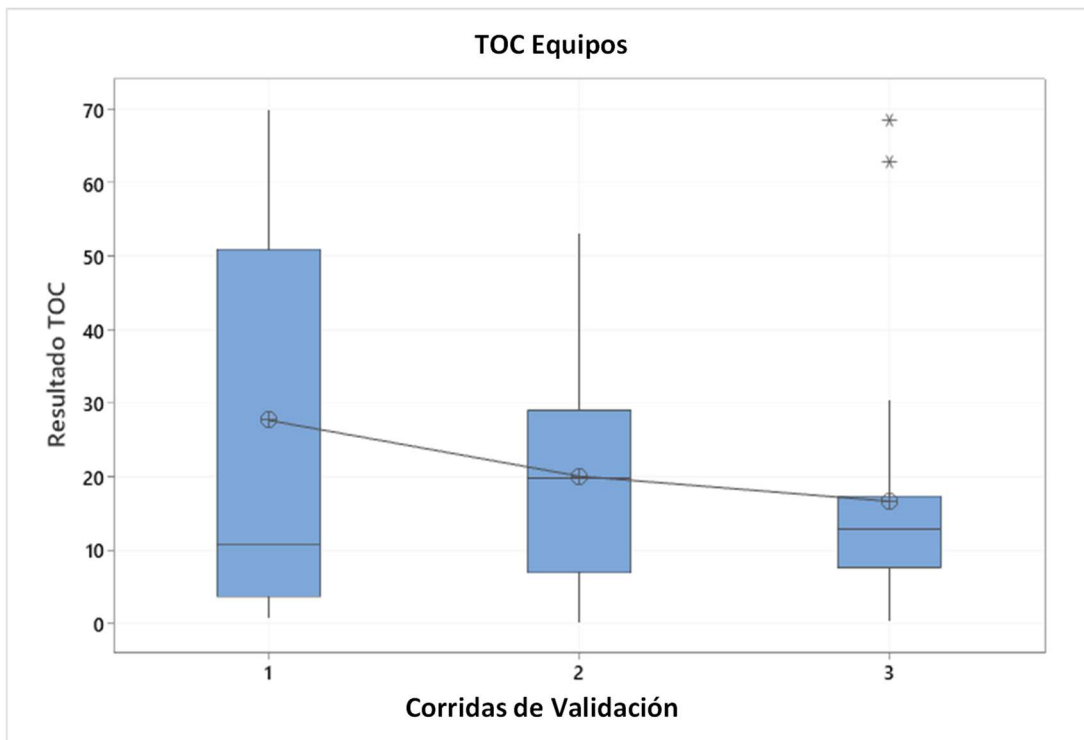
Para la prueba de TOC adicionalmente pudieron realizarse dos corridas en cada ejercicio, lo que permite tener más certeza en los datos. También se decidió separar los resultados conforme al tipo de superficie y se tomaron 3 superficies base:

- Equipos, que se refiere a las superficies del equipo que están en contacto directo con el fármaco y los excipientes, la mayor parte de estas superficies son de acero inoxidable 316 L.

- Mangueras, que se refiere a las superficies de mangueras utilizadas para el proceso, estas mangueras no pueden ser abiertas y la técnica principal de limpieza es hacer pasar el agente de limpieza y el agua de enjuague por el interior de estas a la presión del sistema (8 bar), el material de las mangueras es un polímero con composición principal de teflón, la superficie en contacto con producto en estos casos no es tan lisa como la de los equipos.
- Áreas, se refiere a las superficies del cuarto que albergan los equipos, estas superficies son recubrimientos epóxicos.

Inicialmente se corrió una prueba de cajas y bigotes para poder observar la variación del proceso:

Figura 5. TOC Equipos.



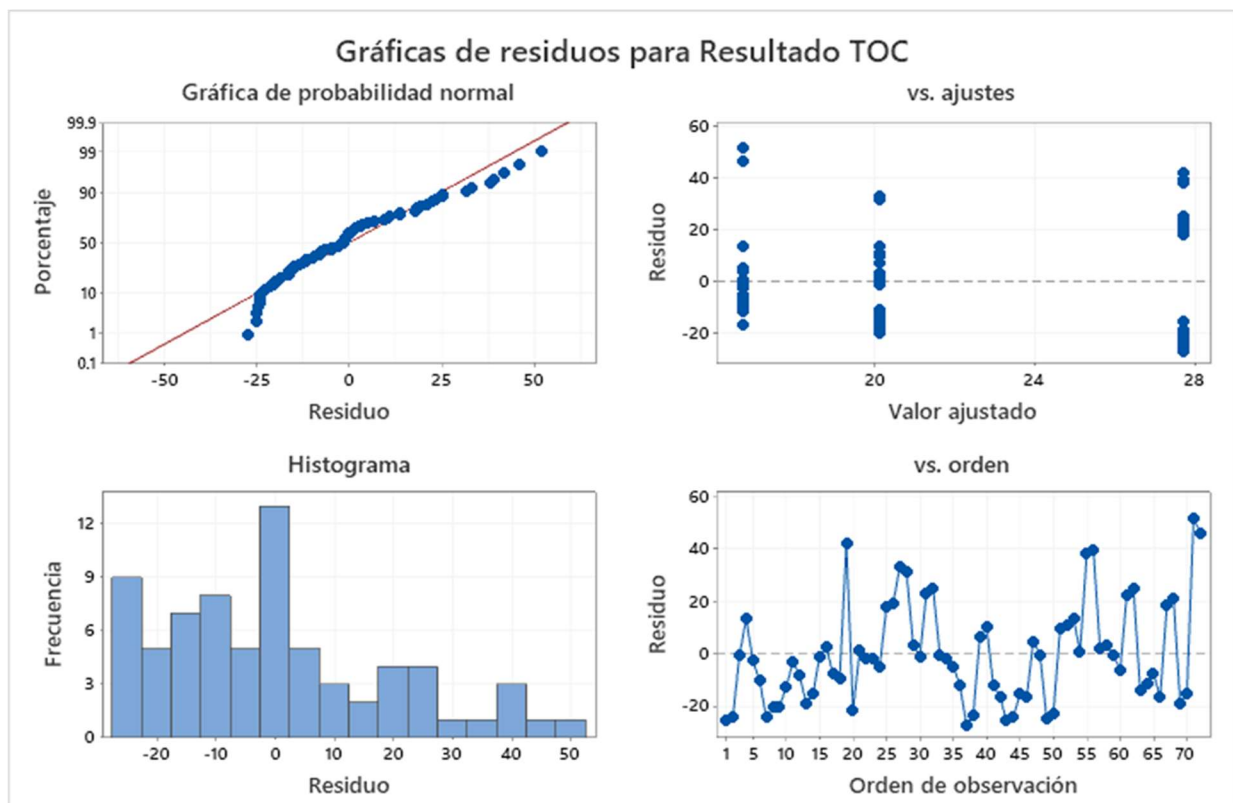
En el gráfico de equipos, se observa que cada una de las limpiezas fue tratada como un ejercicio independiente con su propio muestreo, una observación preliminar sugiere que los procesos de limpieza fueron disminuyendo su variación a lo largo del proceso de validación,



la primera corrida tuvo mayor variación que la segunda corrida y la tercera corrida fue la que menor variación tuvo de las tres corridas, sin embargo, aunque gráficamente los datos de la tercera corrida pudieran sugerir esto, es importante notar que en la tercera corrida se presentan dos valores atípicos, estos corresponden al punto 12 que es el punto cilindro unión, en la parte superior del tamiz, considerando esta observación, la corrida con menor variación es la segunda. La diferencia puede deberse al método de muestreo más que al proceso de limpieza, debido a que es una superficie de difícil acceso se estima que el segundo muestreo pudo causar la diferencia en la medición.

Con respecto a las pruebas de normalidad, se puede establecer que hay normalidad en la mayoría de los resultados obtenidos, aunque se pueden observar puntos que presentan un coleo.

Figura 6. Gráficas de residuos para Resultados TOC.



Debido a la observación anterior, se decidió correr un estudio de ANOVA general, en donde se compararon los ejercicios de limpieza y posteriormente, se decidió también correr un

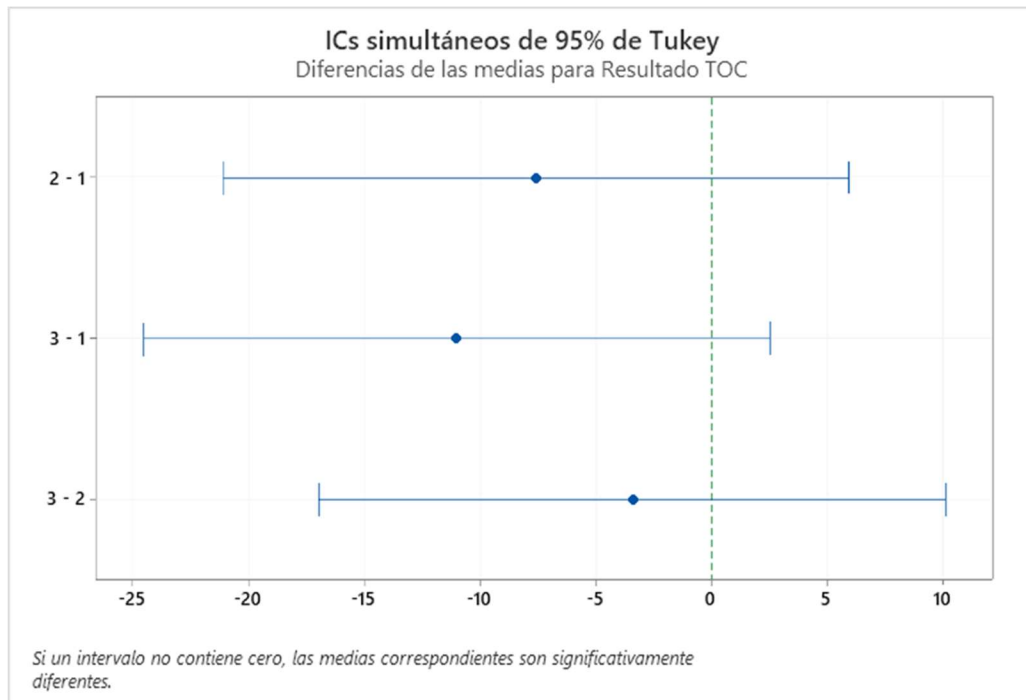
análisis de ANOVA para cada equipo particular, en estos puntos se buscó también verificar si existían diferencias en el muestreo, los análisis estadísticos fueron realizados en minitab versión 21.2.0. El análisis de las observaciones a continuación:

Figura 7. Aálisis de las observaciones.

ANOVA de un solo factor: Resultado TOC vs. Corridas de Validación								
<b>Método</b>								
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales							
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales							
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$							
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>								
<b>Información del factor</b>								
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>						
Muestra	3	1, 2, 3						
<b>Análisis de Varianza</b>								
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>	
Muestra	2	1522	5.47%	1522	761.2	2	0.144	
Error	69	26327	94.53%	26327	381.6			
Total	71	27850	100.00%					
<b>Resumen del modelo</b>								
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>		<b>PRESS-cuad. (pred)</b>				
	19.5335	5.47%	2.73%	28666.5	0.00%			
<b>Medias</b>								
	<b>Muestra</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>IC de 95%</b>			
	1	24	27.72	25.87	(19.76, 35.67)			
	2	24	20.13	14.15	(12.17, 28.08)			
	3	24	16.71	16.58	(8.76, 24.67)			
<i>Desv.Est. agrupada = 19.5335</i>								
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>								
<i>Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%</i>								
	<b>Equipos</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>				
	1	24	27.72	A				
	2	24	20.13	A				
	3	24	16.71	A				
<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>								
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>								
	<b>Diferencia de niveles</b>		<b>le las medias de diferencia</b>		<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T y P ajustado</b>		
'2 - 1		-7.59	5.64	(-21.11, 5.93)	-1.35	0.375		
'3 - 1		-11	5.64	(-24.52, 2.51)	-1.95	0.132		
'3 - 2		-3.41	5.64	(-16.93, 10.11)	-0.61	0.818		

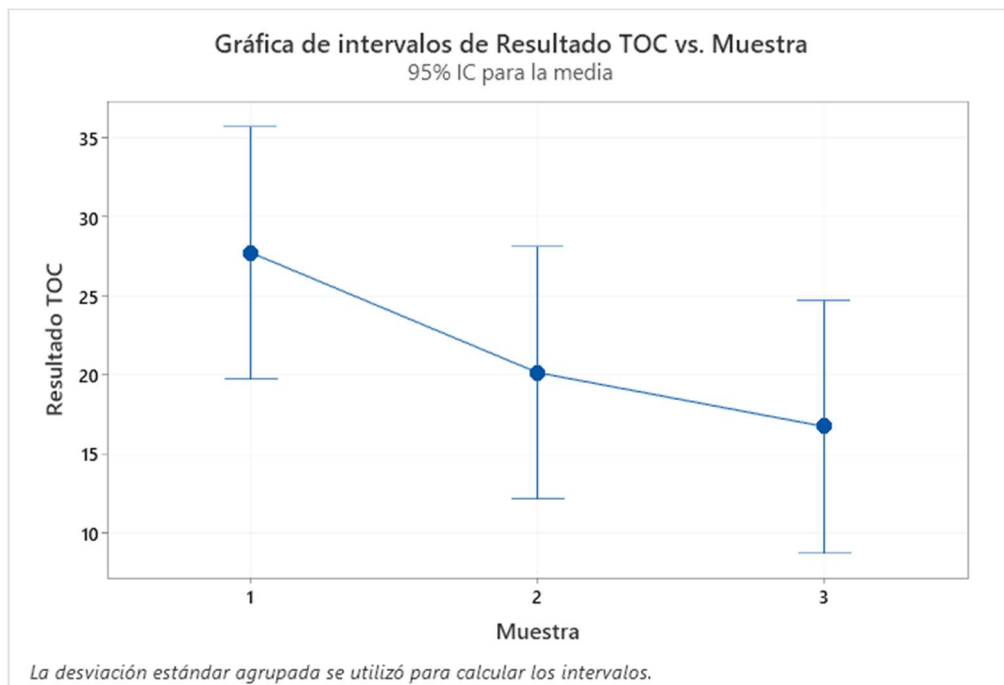
El ejercicio permite confirmar que las medias de los ejercicios realizados son comparables, lo que confirmaría que el ejercicio de limpieza es consistente, esto tras confirmar que el valor p es mayor que 0.05. Con esta observación, también se obtuvo la prueba de Tukey que permite confirmar que las medias son consistentes con un 95% del intervalo de confianza.

Figura 8. ICs simultáneos de 95% de Tukey.



Los intervalos de confianza de las medias al 95% también se translapan, con este punto, lo que permite confirmar la consistencia del resultado de la prueba de TOC:

Figura 9. Gráfica de intervalos de Resultado TOC vs. Muestra.

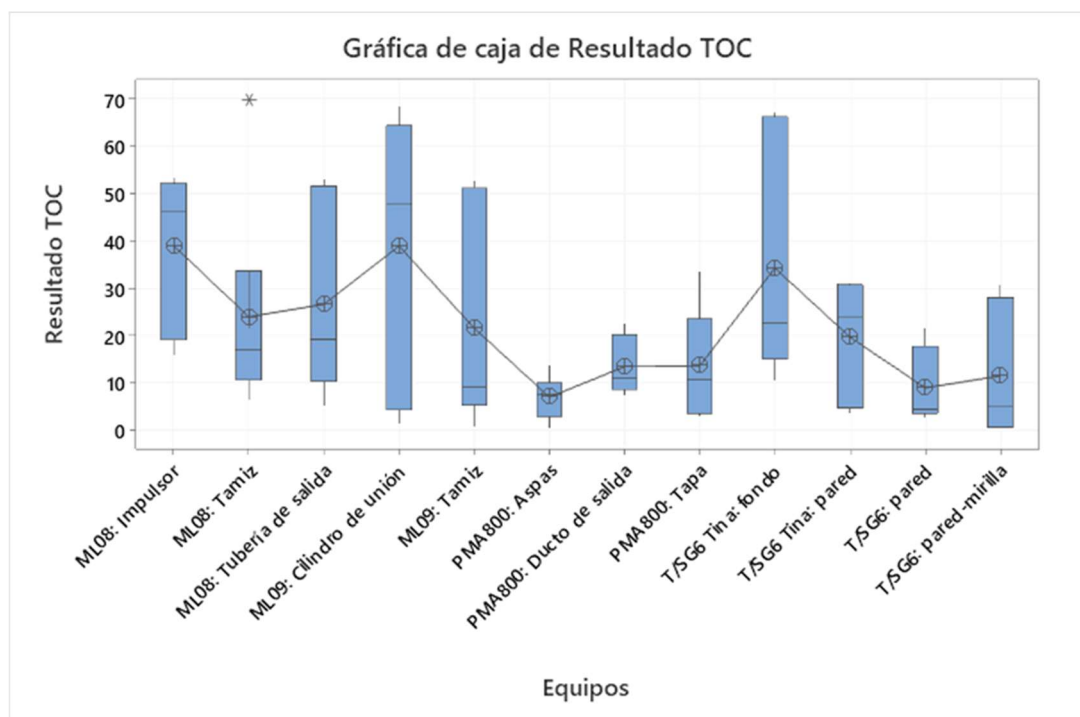


Conforme a lo anterior puede observarse que los resultados de las limpiezas para los 3 ejercicios son consistentes.

El análisis del resultado obtenido permite dar certeza en cuanto a los ejercicios de limpieza y las corridas de validación, sin embargo, una segunda aproximación para el análisis de resultados puede ser considerar todos los resultados de TOC independientemente al día de muestreo y hacer una comparación de los resultados de todas las superficies muestreadas. Con este análisis, buscaríamos entender un poco mejor, las dificultades de muestreo o limpieza de ciertas secciones del tren de fabricación.

El análisis consideró primero separar los resultados de TOC por equipo en gráfico de caja y bigotes:

Figura 10. Gráfica de caja de resultado TOC.



El gráfico muestra un punto atípico en el Tamiz del punto ML08. La variación resumida de los puntos en el tren a continuación:

Tabla 19. Resumen de variación.

Medias						
Equipos	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%	Mayor Variación	
ML08: Impulsor	6	39.01	16.48	(24.32, 53.70)		
ML08: Tamiz	6	23.95	23.12	(9.26, 38.63)	4	
ML08: Tubería de salida	6	26.59	20.43	(11.91, 41.28)	5	
ML09: Cilindro de unión	6	38.9	28.9	(24.2, 53.6)	1	
ML09: Tamiz	6	21.55	23.59	(6.86, 36.24)	3	
PMA800: Aspas	6	6.97	4.64	(-7.72, 21.66)		
PMA800: Ducto de salida	6	13.4	6.28	(-1.29, 28.09)		
PMA800: Tapa	6	13.59	11.9	(-1.10, 28.28)		
T/SG6 Tina: fondo	6	34.3	25.4	(19.6, 48.9)	2	
T/SG6 Tina: pared	6	19.64	12.9	(4.95, 34.33)		
T/SG6: pared	6	8.92	8.07	(-5.77, 23.61)		
T/SG6: pared-mirilla	6	11.45	13.7	(-3.24, 26.14)		
<i>Desv.Est. agrupada = 17.9869</i>						

Dentro de la tabla se puede observar la variación de los equipos, se decidió seleccionar todos los equipos cuyas variaciones son más grandes que la desviación estándar agrupada, con el propósito de entender mejor el proceso de limpieza en el tren, se decidió aplicar un análisis más específico para las corridas de validación, en cada uno de los puntos de mayor variación, con el objetivo de entender mejor, si dentro de las corridas, pudiera identificarse algún problema dentro del ejercicio de limpieza o bien en el muestreo.

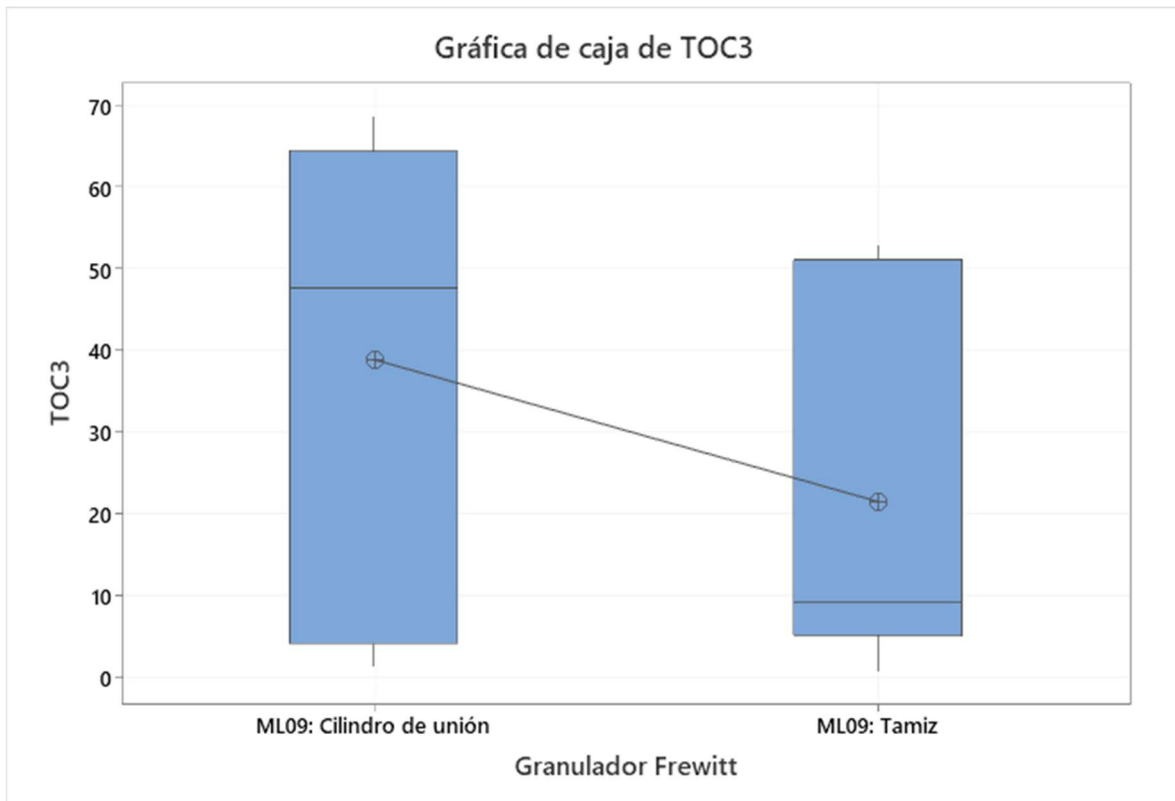
El análisis de datos reveló que la sección ML09 del tren es una zona de variación alta, se decidió agrupar los resultados que corresponden a los puntos 11 y 12 del tren, el resultado de los análisis efectuados a continuación:

Tabla 20. Resultado de los análisis.

Granulador Frewitt	Corrida	TOC3
ML09: Tamiz	1	50.52
ML09: Tamiz	1	52.94
ML09: Tamiz	2	6.73
ML09: Tamiz	2	9.15
ML09: Tamiz	3	9.22
ML09: Tamiz	3	0.75
ML09: Cilindro de unión	1	46.35
ML09: Cilindro de unión	1	49.01
ML09: Cilindro de unión	2	1.29
ML09: Cilindro de unión	2	5.22
ML09: Cilindro de unión	3	68.63
ML09: Cilindro de unión	3	62.98

Con los resultados de TOC, se realizó primeramente la gráfica de cajas y bigotes de cada sección, para poder entender mejor la variación de los resultados en la sección:

Figura 11. Gráfica TOC sección ML09



De la gráfica se puede observar que el total de los resultados es más o menos consistente entre los 2 equipos con respecto a la variabilidad, pero se observa una diferencia en cuanto a las medias, refleja que el Tamiz es una pieza que se puede limpiar más fácil que el Cilindro unión, esto tras observar que el promedio de los resultados es más bajo en el Tamiz, sin embargo, la dispersión de los datos es muy similar.

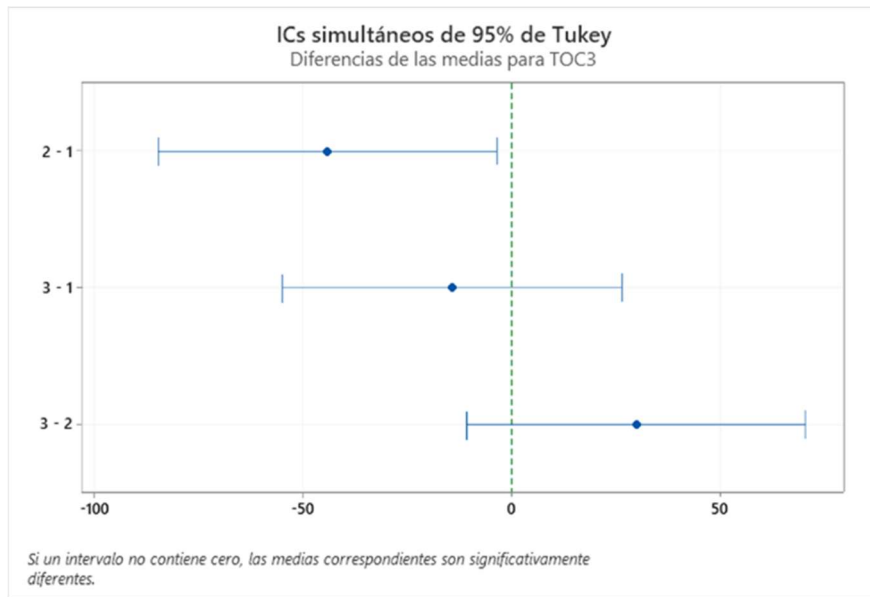
El análisis continuó con la elaboración de la ANOVA:

Figura 12. ANOVA.

ANOVA de un solo factor: TOC Cilindro Unión vs. Corridas de Validación							
<b>Método</b>							
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales						
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>							
<b>Información del factor</b>							
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>					
Muestreo3	3	1, 2, 3					
<b>Análisis de Varianza</b>							
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Muestreo3	2	4051	51.56%	4051	2025.5	4.79	0.038
Error	9	3806	48.44%	3806	422.9		
Total	11	7857	100.00%				
<b>Resumen del modelo</b>							
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>	<b>PRESS-cuad. (pred)</b>				
	20.5641	51.56%	40.79%	6766.08	13.88%		
<b>Medias</b>							
	<b>Muestreo3</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Dev. Est.</b>	<b>IC de 95%</b>		
	1	4	49.71	2.76	(26.45, 72.96)		
	2	4	5.6	3.29	(-17.66, 28.86)		
	3	4	35.4	35.4	(12.1, 58.7)		
<i>Dev. Est. agrupada = 20.5641</i>							
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>							
<i>Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%</i>							
	<b>Muestreo3</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>			
	1	4	49.71	A			
	3	4	35.4	A		B	
	2	4	5.6	B			
<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>							
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>							
	<b>Diferencia de niveles</b>		<b>de las medias</b>	<b>de diferencia</b>	<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T</b>	<b>P ajustado</b>
'2 - 1			-44.1	14.5	(-84.7, -3.5)	-3.03	0.034
'3 - 1			-14.3	14.5	(-54.9, 26.3)	-0.98	0.604
'3 - 2			29.8	14.5	(-10.8, 70.4)	2.05	0.156

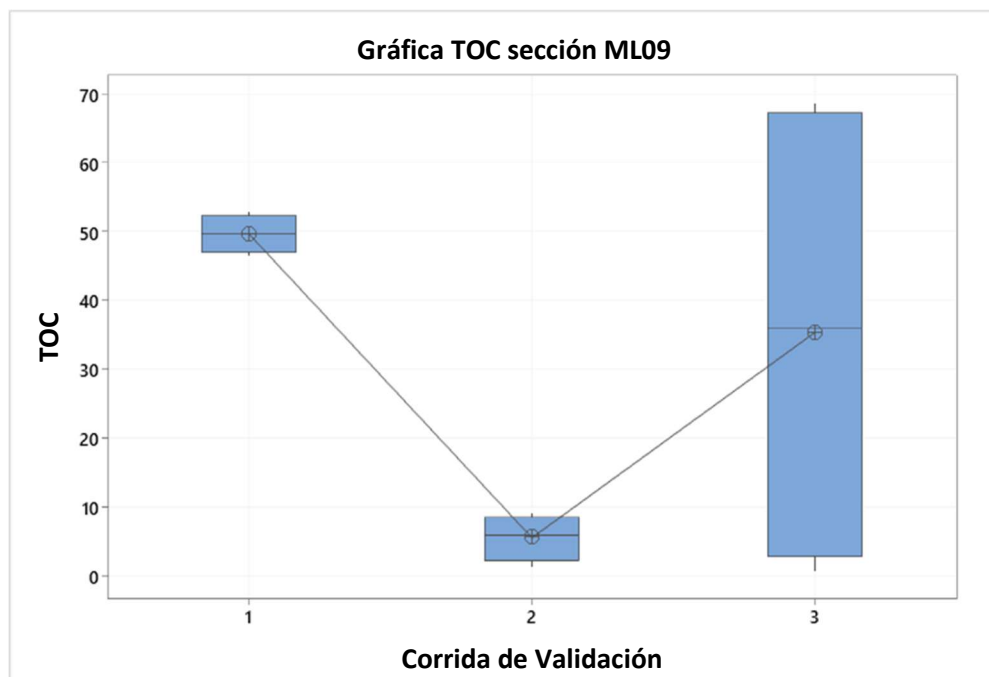
Como puede observarse el ejercicio revela que en los resultados de la segunda corrida de validación las medias no son iguales a los ejercicios de la primera y segunda corrida, esto puede también observarse gráficamente en el diagrama de Tukey:

Figura 13. ICs simultáneos de 95% de Tukey.



El gráfico de cajas y bigotes nos permite analizar mejor lo que está pasando en las corridas y la agrupación de puntos, porque podemos ver de manera más clara las medias y el comportamiento de los resultados:

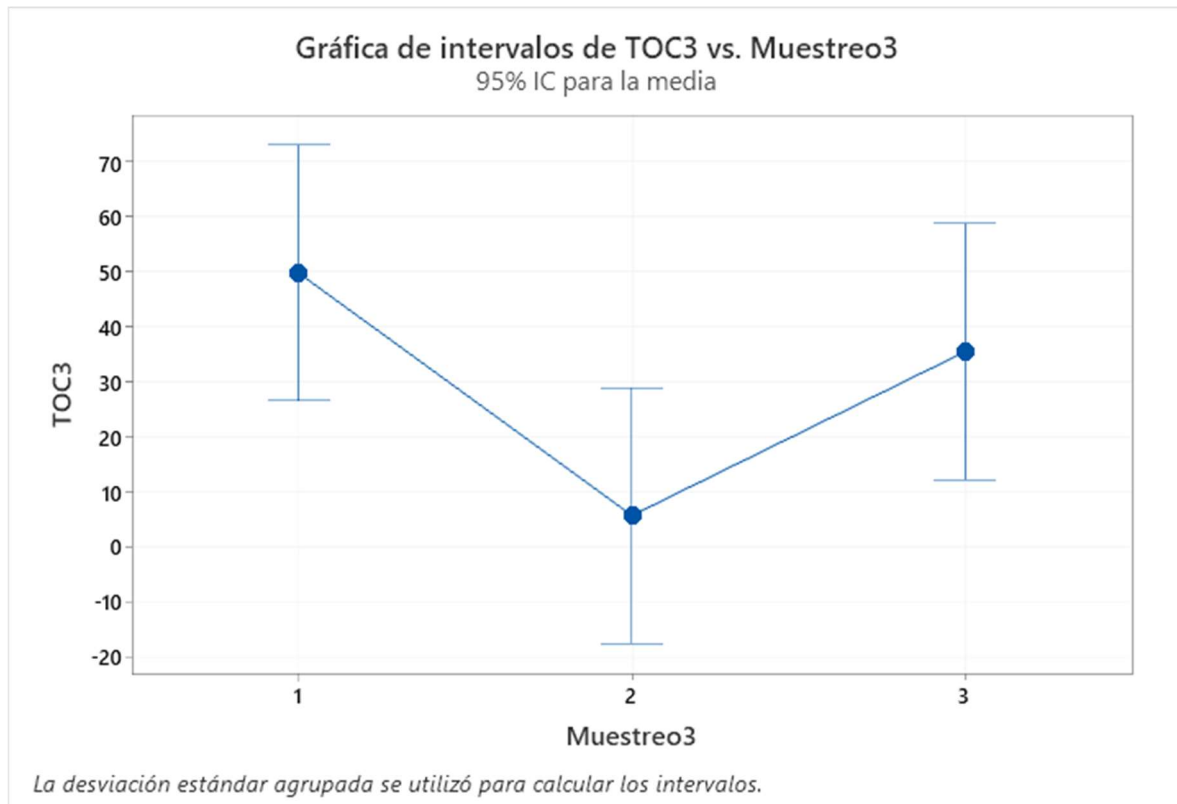
Figura 14. Gráfica TOC sección ML09.





Como puede observarse la corrida de validación 3, fue la que mayor variación presentó en cuanto a resultados para esta sección, es esta corrida la que coincide con las 2 corridas de validación previas, en la primera corrida los resultados de TOC son mucho más altos que para la tercera corrida, esto pudiera reflejar que existió algún problema en los muestreos de la validación, se decidió entonces realizar el gráfico de Intervalo de confianza para poder llegar a mejores conclusiones:

Figura 15. Gráfica de intervalos de TOC3 vs. Muestreo3.



Medias					
Corrida de Validación ML09	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%	
1	4	49.71	2.76	(26.45, 72.96)	
2	4	5.6	3.29	(-17.66, 28.86)	
3	4	35.4	35.4	(12.1, 58.7)	

La gráfica de los intervalos de confianza arroja mayor coincidencia entre la primera y la tercera corrida de validación, indicando así que la segunda corrida tuvo algún problema de muestreo que no permitió recuperar del todo las trazas de carbón orgánico en el equipo. Para esta sección es importante en futuros ejercicios revisar la técnica de muestreo ya que las secciones son de difícil acceso.

Otra zona importante de variación es la que corresponde a la sección ML08, al igual que en la sección ML09, el primer paso fue agrupar todos los equipos referentes a esa sección del tren:

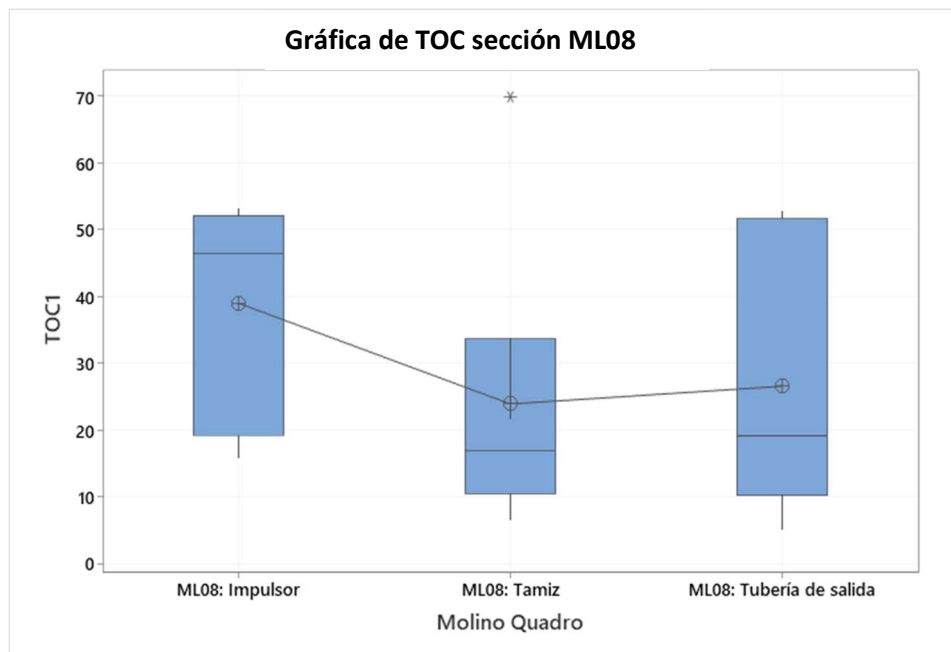
Corresponde a los puntos 4, 5 y 6 de muestreo:

Tabla 21. Equipos referentes a sección ML08.

<b>Molino Quadro</b>	<b>Muestreo1</b>	<b>TOC1</b>
ML08: Tamiz	1	69.895496
ML08: Tamiz	1	6.420414
ML08: Tamiz	2	21.566006
ML08: Tamiz	2	18.720328
ML08: Tamiz	3	15.145592
ML08: Tamiz	3	11.923626
ML08: Impulsor	1	45.648438
ML08: Impulsor	1	47.130072
ML08: Impulsor	2	53.221234
ML08: Impulsor	2	51.786636
ML08: Impulsor	3	20.413624
ML08: Impulsor	3	15.851132
ML08: Tubería de salida	1	51.15165
ML08: Tubería de salida	1	52.986054
ML08: Tubería de salida	2	19.661048
ML08: Tubería de salida	2	18.743846
ML08: Tubería de salida	3	11.99418
ML08: Tubería de salida	3	5.032852

Con los resultados de TOC, se realizó primeramente la gráfica de cajas y bigotes de cada sección, para poder entender mejor la variación de los resultados en la sección:

Figura 16. Gráfica de TOC sección ML08.



De la gráfica se puede observar que el total de los resultados es consistente entre los 3 puntos con respecto a la variabilidad, al igual que en la sección ML09, se observa una diferencia en cuanto a las medias, refleja que el Tamiz y la tubería de salida, son piezas que se puede limpiar más fácil que el impulsor, esto tras observar que el promedio de los resultados es más bajo en el Tamiz y en la tubería de salida, sin embargo, el tamiz tiene un punto que está fuera de lo esperado, este resultado, pudiera ser un indicativo sobre alguna dificultad en la toma de muestra, o bien, algún problema en el proceso de lavado.

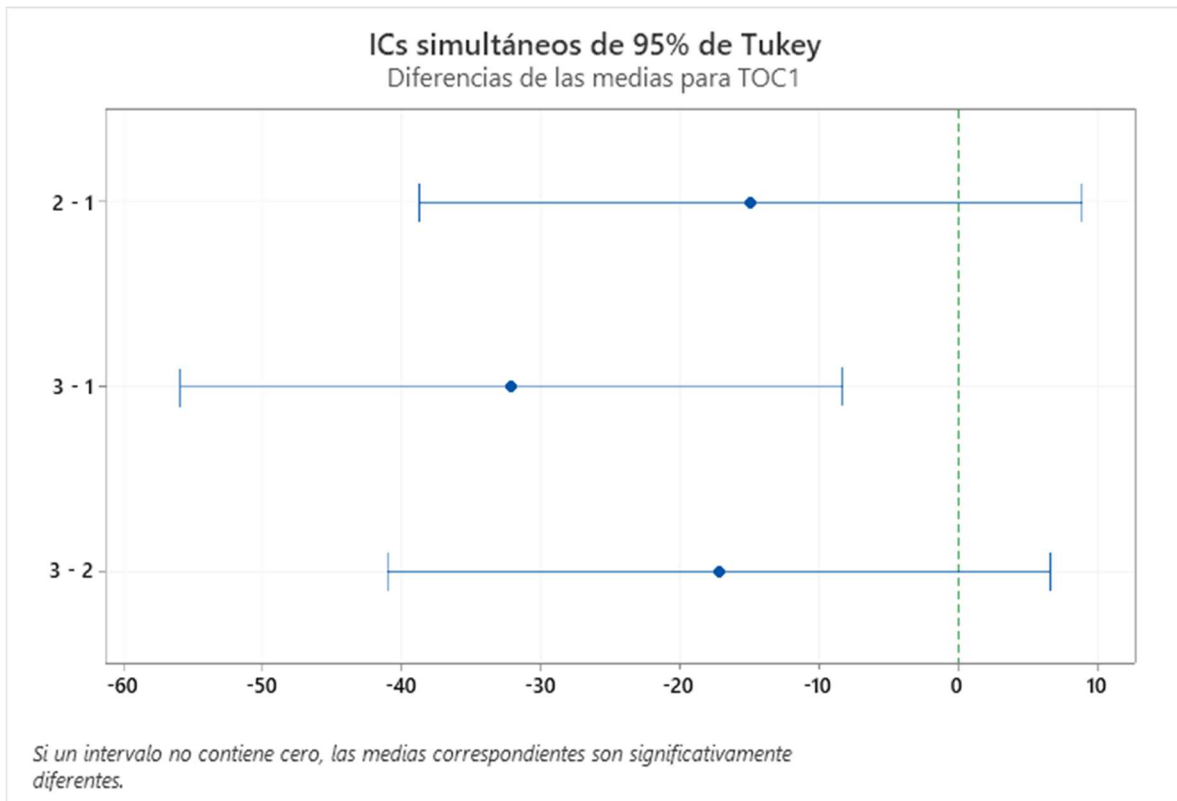
El análisis continuó con la elaboración de la ANOVA:

Figura 17. ANOVA.

ANOVA de un solo factor: TOC ML08 vs. Corridas de Validación							
<b>Método</b>							
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales						
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>							
<b>Información del factor</b>							
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>					
Muestreo1	3	1, 2, 3					
<b>Análisis de Varianza</b>							
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Muestreo1	2	3105	45.04%	3105	1552.6	6.15	0.011
Error	15	3789	54.96%	3789	252.6		
Total	17	6894	100.00%				
<b>Resumen del modelo</b>							
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>	<b>PRESS-cuad. (pred)</b>				
	15.8933	45.04%	37.71%	5456.13	20.86%		
<b>Medias</b>							
	<b>Muestreo1</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>IC de 95%</b>		
	1	6	45.54	21.04	(31.71, 59.37)		
	2	6	30.62	16.99	(16.79, 44.45)		
	3	6	13.39	5.15	(-0.44, 27.22)		
<i>Desv.Est. agrupada = 15.8933</i>							
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>							
<i>Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%</i>							
	<b>Muestreo1</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>			
	1	6	45.54	A			
	2	6	30.62	B			
	3	6	13.39	B			
<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>							
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>							
	<b>Diferencia de niveles</b>		<b>le las medias de diferencia</b>	<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T</b>	<b>r P ajustado</b>	
'2 - 1		-14.92	9.18	(-38.73, 8.89)	-1.63	0.266	
'3 - 1		-32.15	9.18	(-55.96, -8.33)	-3.5	0.008	
'3 - 2		-17.22	9.18	(-41.04, 6.59)	-1.88	0.18	
<i>Nivel de confianza individual = 97.97%</i>							

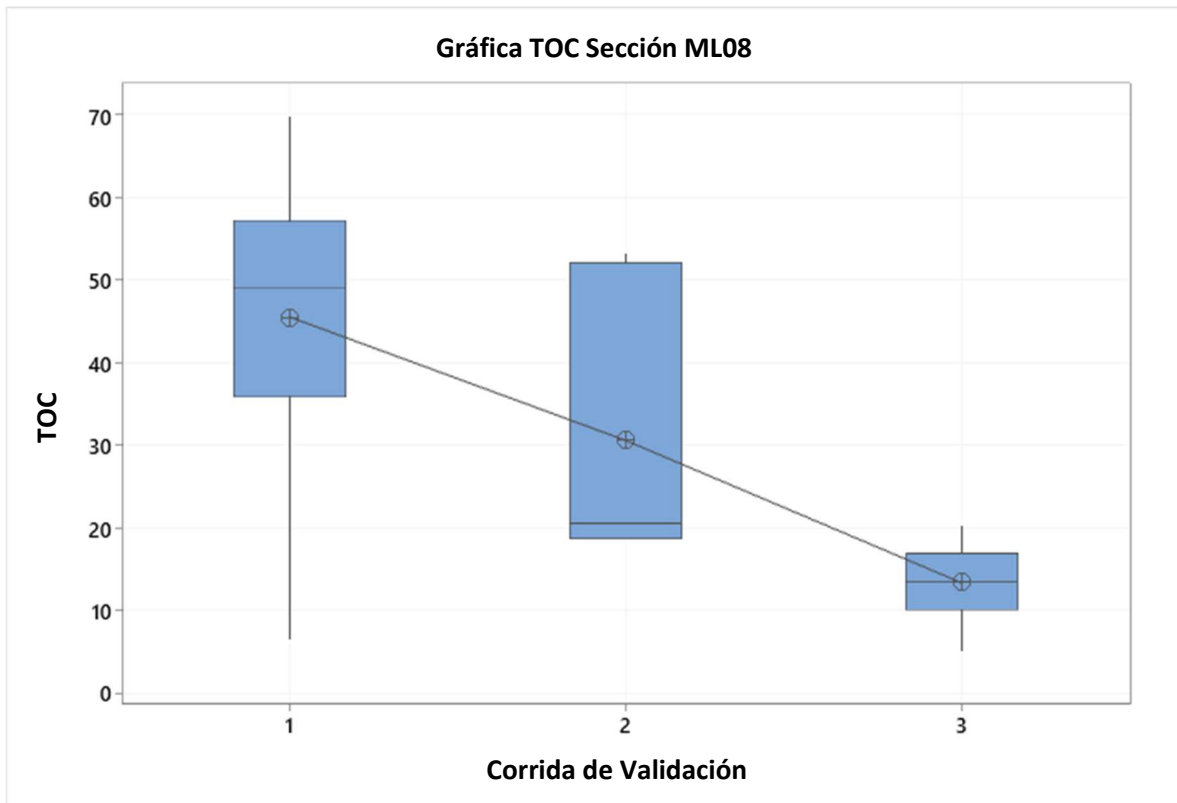
Como puede observarse el ejercicio revela que los en los resultados de la tercera corrida de validación, las medias no corresponden a los intervalos de confianza de los ejercicios de la primera corrida, esto puede también observarse gráficamente en el diagrama de Tukey:

Figura 18. ICs simultáneos de 95% de Tukey.



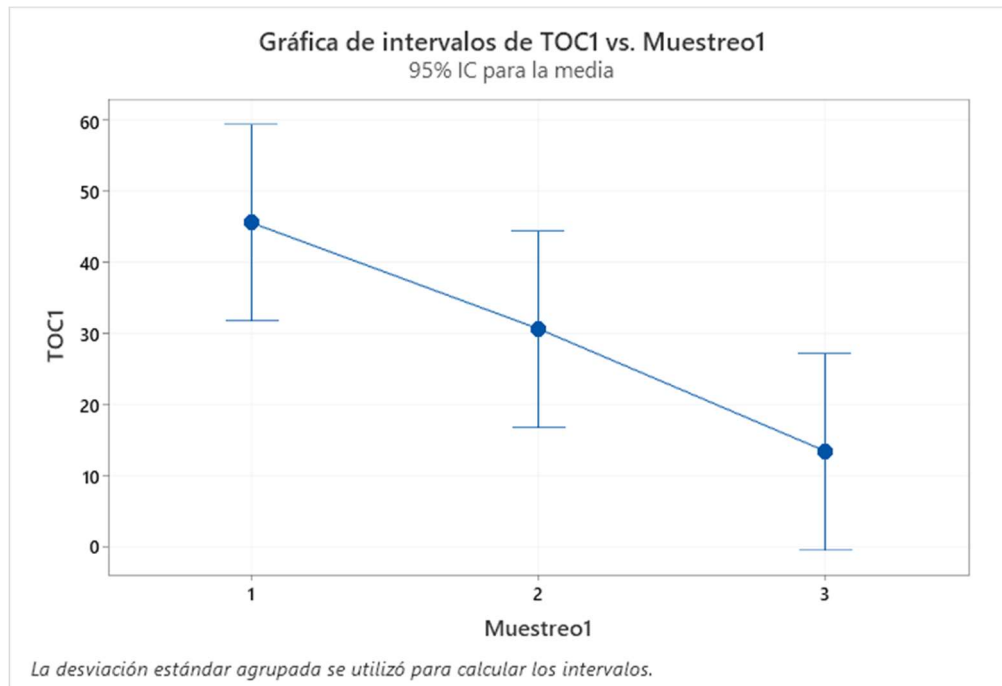
El gráfico de cajas y bigotes nos permite analizar mejor lo que está pasando en las corridas y la agrupación de puntos, porque podemos ver de manera más clara las medias y el comportamiento de los resultados:

Figura 19. Gráfica TOC sección ML08.



Como se puede observar la tercera corrida de validación, es la que menor variación tiene y la que logró la media con el valor más bajo para los 3 ejercicios, el gráfico de manera preliminar sugeriría una mejora del proceso de limpieza a lo largo de las corridas, se observa que la mayor variación de los valores de TOC se encuentra en la primera corrida, pero que hay una mayor dispersión de las medianas y valores en la segunda corrida. Se decidió correr una gráfica del intervalo de confianza para tener observaciones más específicas:

Figura 20. Gráfica de intervalos de TOC1 vs Muestreo1



Medias					
	Muestreo1	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
	1	6	45.54	21.04	(31.71, 59.37)
	2	6	30.62	16.99	(16.79, 44.45)
	3	6	13.39	5.15	(-0.44, 27.22)

La gráfica del intervalo de confianza muestra una mejora de la media y la reducción de la desviación estándar a medida que las corridas de validación progresan, es decir, la primera corrida es la que mejores resultados aporta, estos puntos son de más fácil acceso que los de la ML09, por lo que estar verificando los resultados de una práctica mejorada en limpieza o muestreo es esperado. Aún así se determina que en esta sección hay robustez porque se puede ver una mejora sistemática dentro del análisis de los resultados.

Conforme a lo anterior, la última sección por analizar corresponde a la sección del secador, que son los puntos 7, 8, 9 y 10:

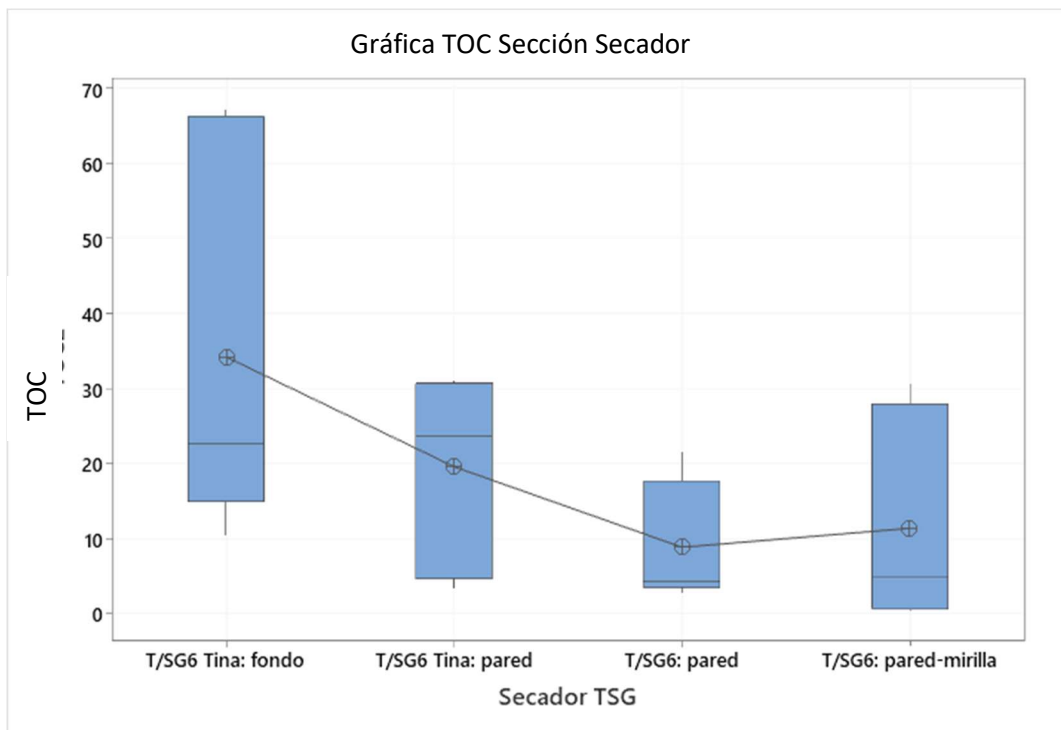
Tabla 22. Equipo secador TSG.

Secador TSG	Corrida	TOC
T/SG6: pared-mirilla	1	0.73
T/SG6: pared-mirilla	1	4.68
T/SG6: pared-mirilla	2	27.09
T/SG6: pared-mirilla	2	30.69
T/SG6: pared-mirilla	3	5.08
T/SG6: pared-mirilla	3	0.42
T/SG6: pared	1	2.73
T/SG6: pared	1	3.81
T/SG6: pared	2	5.03
T/SG6: pared	2	3.81
T/SG6: pared	3	21.73
T/SG6: pared	3	16.42
T/SG6 Tina: pared	1	3.39
T/SG6 Tina: pared	1	5.17
T/SG6 Tina: pared	2	29.75
T/SG6 Tina: pared	2	31.18
T/SG6 Tina: pared	3	30.60
T/SG6 Tina: pared	3	17.76
T/SG6 Tina: fondo	1	65.94
T/SG6 Tina: fondo	1	67.12
T/SG6 Tina: fondo	2	22.15
T/SG6 Tina: fondo	2	23.33
T/SG6 Tina: fondo	3	16.49
T/SG6 Tina: fondo	3	10.47

La gráfica de cajas y bigotes de TOC, para entender mejor la variación de la sección, se ve de la siguiente forma:



Figura 21. Gráfica TOC sección secador.



De la gráfica se puede observar que el total de los resultados es consistente entre los 4 puntos con respecto a la variabilidad, se observa que el punto de mayor variación es el del fondo de la tina, el punto de la pared aunque presenta una media baja, tiene una buena cantidad de puntos por encima de la misma, indicando alguna dificultad en la limpieza, esto tras observar que el promedio de los resultados es más bajo en la primera corrida y fue incrementando.

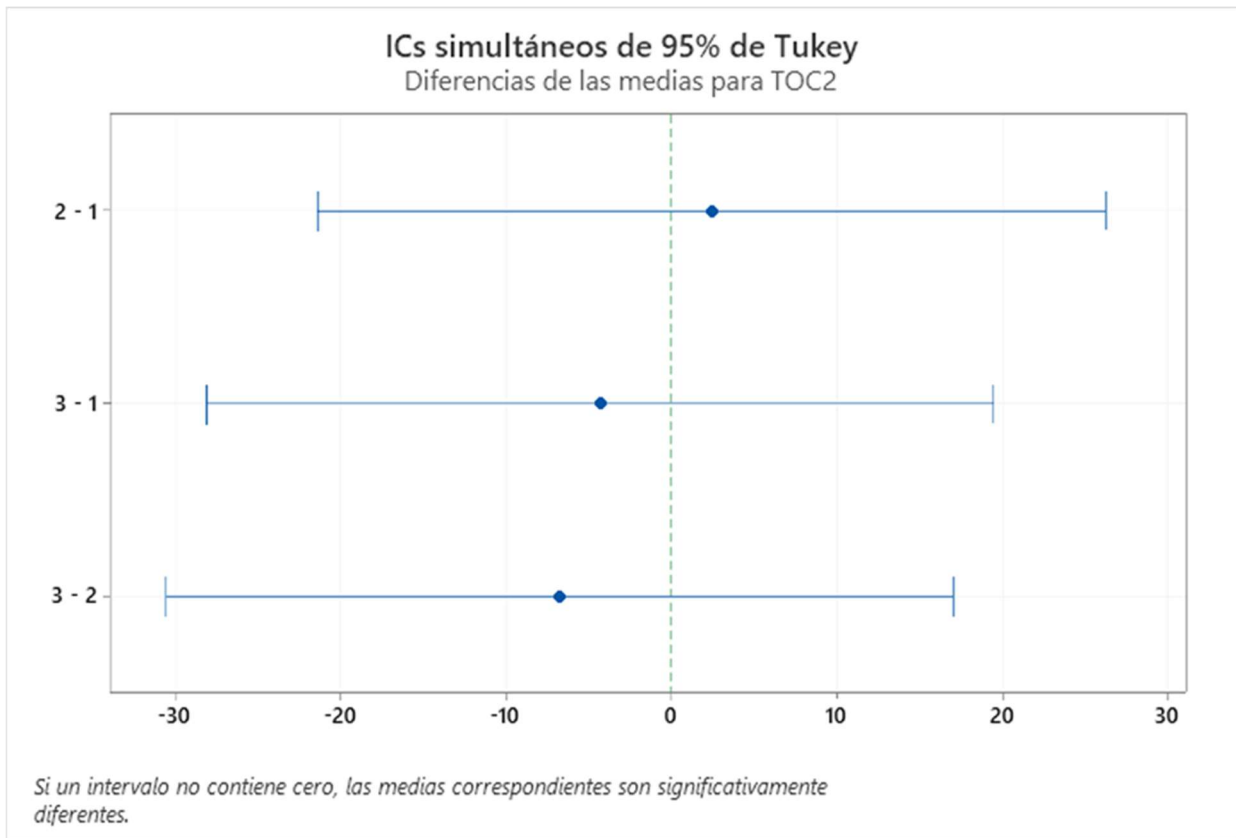
El análisis continuó con la elaboración de la ANOVA:

Figura 22. ANOVA.

ANOVA de un solo factor: TOC Sección Secador vs. Corridas de Validación							
<b>Método</b>							
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales						
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>							
<b>Información del factor</b>							
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>					
Muestreo2	3	1, 2, 3					
<b>Análisis de Varianza</b>							
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Muestreo2	2	187.6	2.45%	187.6	93.82	0.26	0.771
Error	21	7485.4	97.55%	7485.4	356.45		
Total	23	7673.1	100.00%				
<b>Resumen del modelo</b>							
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>	<b>PRESS-cuad. (pred)</b>				
	18.8799	2.45%	0.00%	9776.89	0.00%		
<b>Medias</b>							
	<b>Muestreo2</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>IC de 95%</b>		
	1	8	19.2	29.2	(5.3, 33.1)		
	2	8	21.63	11.12	(7.75, 35.51)		
	3	8	14.87	9.5	(0.99, 28.75)		
<i>Desv.Est. agrupada = 18.8799</i>							
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>							
<i>Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%</i>							
	<b>Muestreo2</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>			
	2	8	21.63	A			
	1	8	19.2	A			
	3	8	14.87	A			
<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>							
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>							
	<b>Diferencia de niveles</b>		<b>de las medias de diferencia</b>		<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T o P ajustado</b>	
'2 - 1	2.43		9.44		(-21.33, 26.20)	0.26	0.964
'3 - 1	-4.33		9.44		(-28.09, 19.44)	-0.46	0.891
'3 - 2	-6.76		9.44		(-30.52, 17.00)	-0.72	0.757
<i>Nivel de confianza individual = 98.00%</i>							

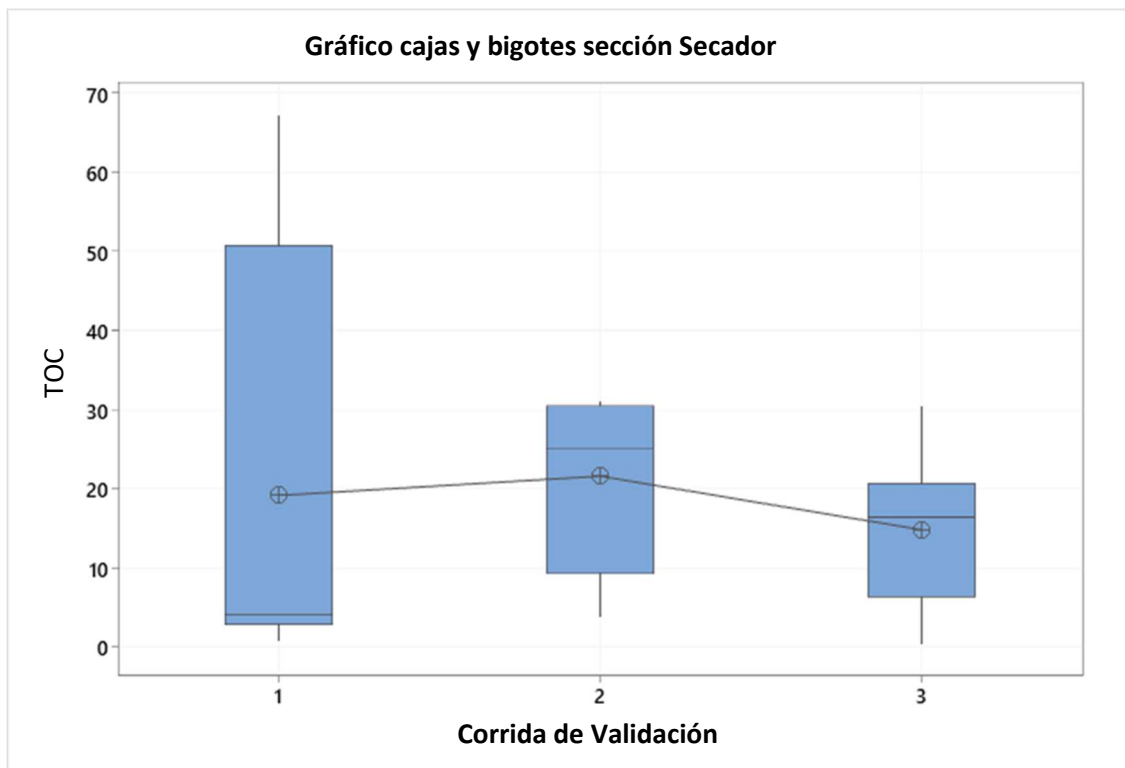
Los resultados resultados revelan que las medias de los puntos de la sección son consistentes, a continuación, se muestra la gráfica de Tukey, que también muestra la misma conclusión:

Figura 23. ICs simultáneos de 95% de Tukey.



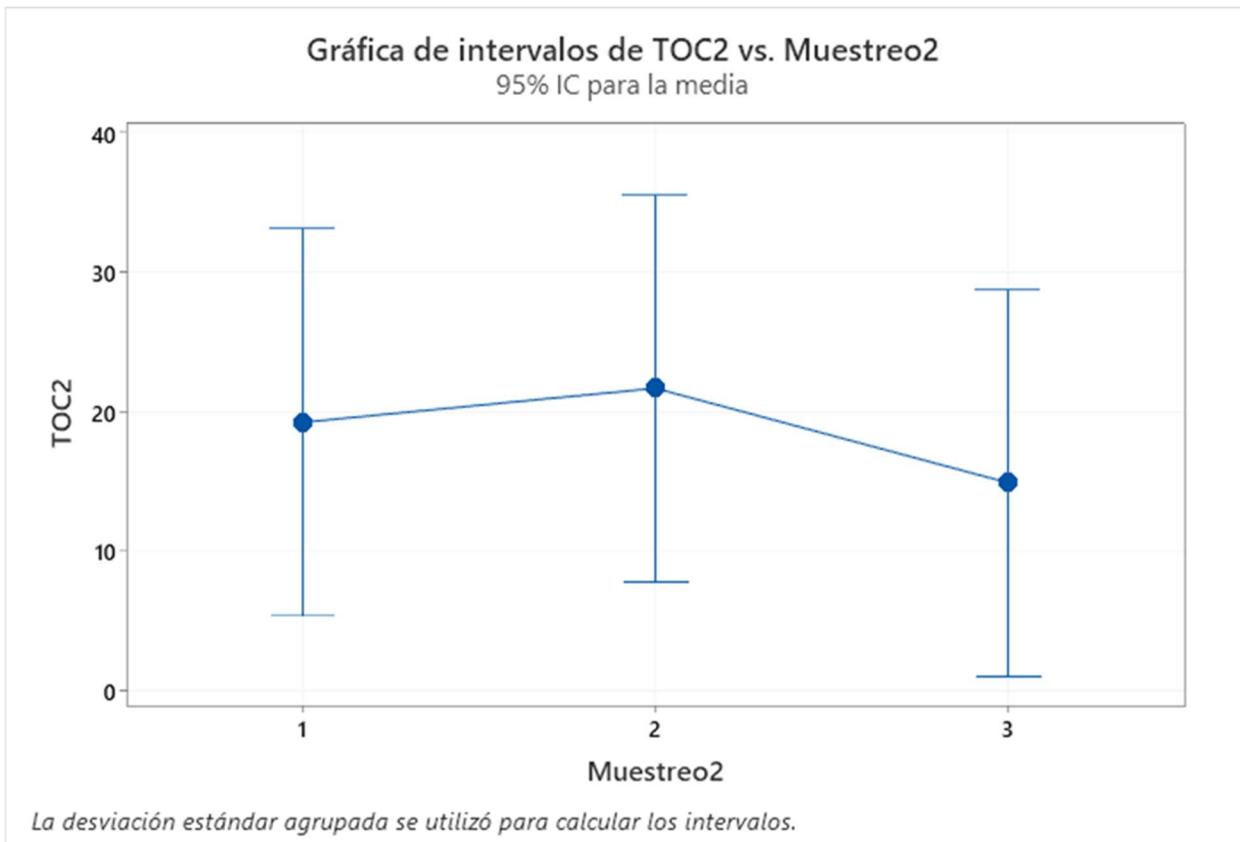
A continuación, se analizó el gráfico de cajas y bigotes para entender mejor el comportamiento del proceso de la limpieza y de los muestreos en la sección:

Figura 24. Gráfico de cajas y bigotes sección secador.



La gráfica de cajas y bigotes revela que la primera corrida fue la de mayor variación, un análisis detallado de los datos hará notar que los muestreos del primer día son los más altos de las corridas, tras analizar los datos se observa que el primer muestreo para el fondo de la tina es más alto que los otros días, en este caso se concluye una variación en el proceso de limpieza. A continuación, se corrió el gráfico de intervalo de confianza para tener observaciones adicionales:

Figura 25. Gráfica de Intervalos de TOC2 vs Muestreo2.



Medias					
	Muestreo2	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
	1	8	19.2	29.2	(5.3, 33.1)
	2	8	21.63	11.12	(7.75, 35.51)
	3	8	14.87	9.5	(0.99, 28.75)

Se observa que el intervalo de confianza para las medias es consistente, por tanto, podemos concluir que el proceso de limpieza es confiable en esta sección.

- Mangueras:

Al ser de un diferente material que los equipos, se decidió preparar un análisis estadístico independiente para verificar los resultados del proceso de limpieza.

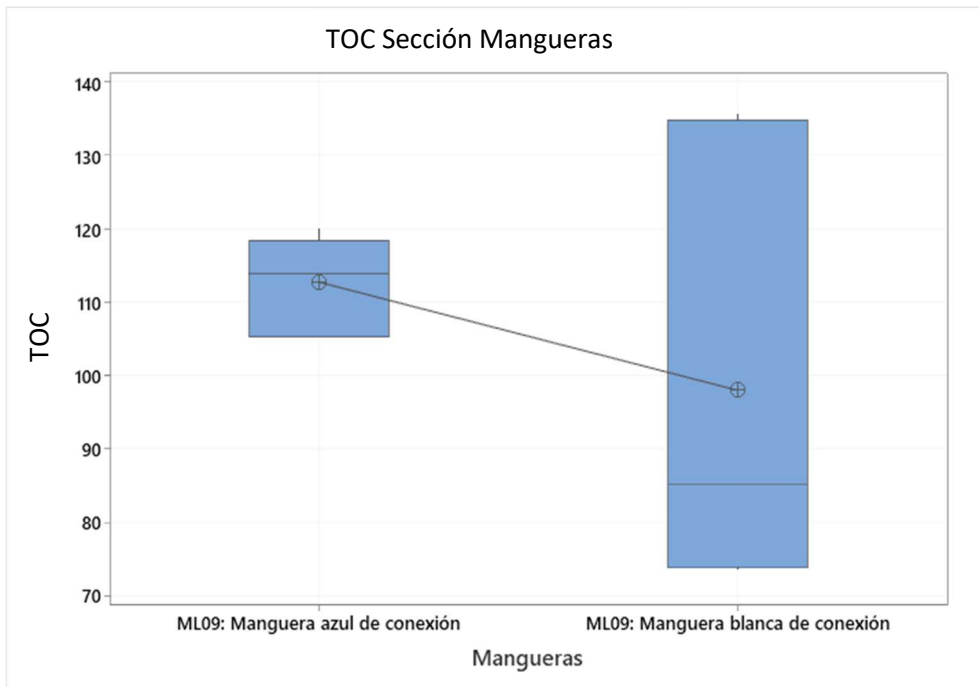
Los puntos de análisis para las mangueras son los puntos 13 (Manguera Azul) y 14 (Manguera blanca), los resultados de los muestreos a continuación:

Tabla 23. Mangueras.

Mangueras	Muestreo4	TOC4
ML09: Manguera azul de conexión	1	105.21
ML09: Manguera azul de conexión	1	105.25
ML09: Manguera azul de conexión	2	115.47
ML09: Manguera azul de conexión	2	117.82
ML09: Manguera azul de conexión	3	120.11
ML09: Manguera azul de conexión	3	112.37
ML09: Manguera blanca de conexión	1	73.52
ML09: Manguera blanca de conexión	1	73.93
ML09: Manguera blanca de conexión	2	83.78
ML09: Manguera blanca de conexión	2	86.49
ML09: Manguera blanca de conexión	3	135.77
ML09: Manguera blanca de conexión	3	134.45

Al igual que con los equipos, la primera aproximación, consistió en verificar el comportamiento de la prueba en una gráfica de cajas y bigotes de la sección:

Figura 26. TOC sección mangueras.



En este caso las mangueras azules presentan menor variación, aunque el promedio de TOC de estas es mayor que el de las mangueras blancas, en este punto conviene analizar si los

resultados muestran alguna diferencia significativa, por tanto, decidió correr un ejercicio de ANOVA, buscando entender si se puede considerar que la media de los resultados de limpieza de ambas mangueras es igual, o bien si se necesitaría un proceso de limpieza diferente:

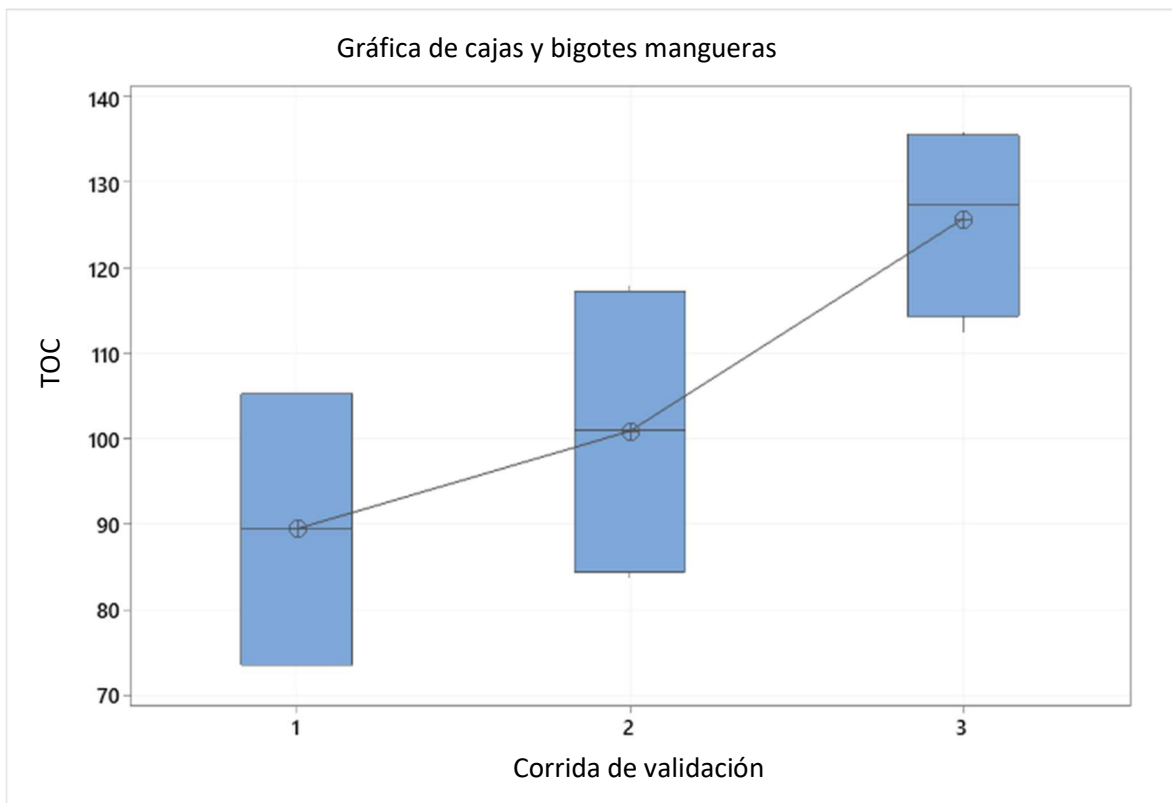
Figura 27. ANOVA.

ANOVA de un solo factor: TOC vs. Mangueras							
<b>Método</b>							
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales						
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>							
<b>Información del factor</b>							
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>					
Mangueras	2	ML09: Manguera azul de conexión, ML09: Manguera blanca de conexión					
<b>Análisis de Varianza</b>							
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Mangueras	1	649.4	12.69%	649.4	649.4	1.45	0.256
Error	10	4469.2	87.31%	4469.2	446.9		
Total	11	5118.6	100.00%				
<b>Resumen del modelo</b>							
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>	<b>PRESS-cuad. (pred)</b>				
	21.1405	12.69%	3.96%	6435.65	0.00%		
<b>Medias</b>							
	<b>Mangueras</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv. Est.</b>	<b>IC de 95%</b>		
	ML09: Manguera azul de conexión	6	112.7	6.33	(93.47, 131.93)		
	ML09: Manguera blanca de conexión	6	98	29.2	(78.8, 117.2)		
	<i>Desv. Est. agrupada = 21.1405</i>						
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>							
<i>Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%</i>							
	<b>Mangueras</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>			
	ML09: Manguera azul de conexión	6	112.7	A			
	ML09: Manguera blanca de conexión	6	98	A			
	<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>						
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>							
	<b>Diferencia de niveles de las medias</b>		<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T</b>		<b>P ajustado</b>	
	ML09: Manguera - ML09: Manguera	-14.7	12.2 (-41.9, 12.5)	-1.21		0.256	
	<i>Nivel de confianza individual = 95.00%</i>						

El análisis de la ANOVA revela que el valor P es mayor que 0.05, por lo tanto, los rangos de las medias se traslapan y el proceso de limpieza seguido sería adecuado.

A continuación, se corrió el análisis de cajas y bigotes para las 3 corridas de validación para las mangueras, los resultados se presentan en la siguiente gráfica:

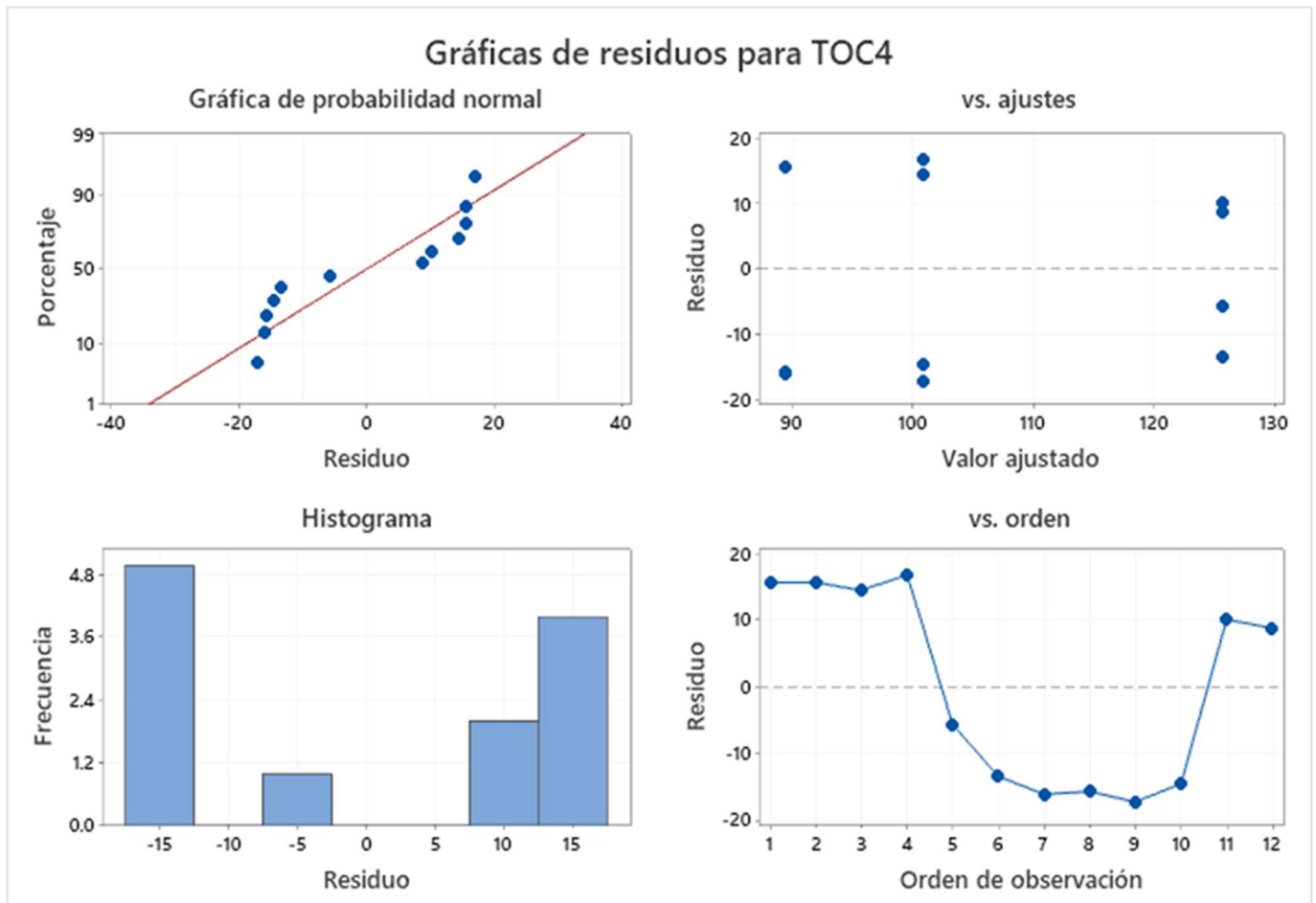
Figura 28. Gráfica de cajas y bigotes mangueras.



Como se puede observar hay menor variación para la tercera corrida, sin embargo, los valores de TOC se incrementan conforme pasan las corridas. Esta observación preliminar podría sugerir las dificultades de limpieza que representan las mangueras de proceso, al principio, remover los residuos es más sencillo, y hay zonas en donde la remoción se logra generando valores muy bajos de TOC, sin embargo, otras zonas permanecen impregnadas con valores más altos, se estima que puede llegar un punto de equilibrio entre la saturación y la remoción de residuos, el punto fundamental, es nunca exceder los muestreos de trazas, o las mismas lecturas de TOC.



Figura 29. Gráficas de residuos para TOC4



El análisis de residuos confirma que la limpieza no se realizó adecuadamente como se corrobora en la figura 29, donde se presenta una tendencia en los residuos y no se observa una distribución normal en los resultados.

Posteriores al análisis de la variación, se decidió correr una ANOVA en donde buscamos si los intervalos de confianza de las medias coinciden indicando la robustez del proceso de limpieza, o bien encontramos alguna variación que deba ser explicada.

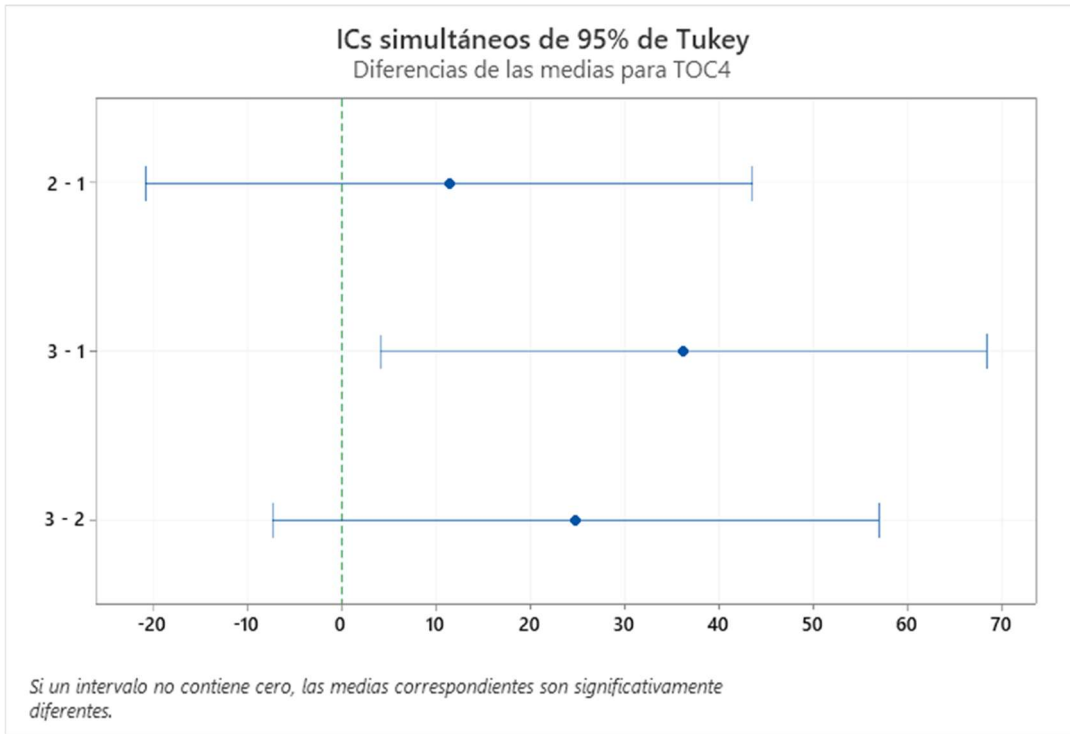
Figura 30. ANOVA.

ANOVA de un solo factor: TOC Mangueras vs. Corridas de Validación							
<b>Método</b>							
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales						
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>							
<b>Información del factor</b>							
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>					
Muestreo4	3	1, 2, 3					
<b>Análisis de Varianza</b>							
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Muestreo4	2	2740	53.53%	2740	1369.9	5.18	0.032
Error	9	2379	46.47%	2379	264.3		
Total		11	5119	100.00%			
<b>Resumen del modelo</b>							
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>		<b>PRESS-cuad. (pred)</b>			
	16.2574	53.53%	43.20%	4228.84	17.38%		
<b>Medias</b>							
	<b>Muestreo4</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>IC de 95%</b>		
	1	4	89.48	18.19	(71.09, 107.86)		
	2	4	100.89	18.25	(82.50, 119.28)		
	3	4	125.67	11.36	(107.29, 144.06)		
<i>Desv.Est. agrupada = 16.2574</i>							
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>							
Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%							
	<b>Muestreo4</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>			
	3	4	125.67	A			
	2	4	100.89	A	B		
	1	4	89.48	B			
<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>							
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>							
	<b>Diferencia de niveles</b>		<b>las medias de diferencia</b>	<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T</b>	<b>r P ajustado</b>	
'2 - 1		11.4	11.5 (-20.7, 43.5)	0.99	0.599		
'3 - 1		36.2	11.5 (4.1, 68.3)	3.15	0.029		
'3 - 2		24.8	11.5 (-7.3, 56.9)	2.16	0.133		

El análisis de ANOVA revela un valor de P menor a 0.05, lo cual indica que los intervalos de confianza de las medias varían, encontrando entonces que la diferencia significativa se encuentra entre la primera y la tercera corrida de validación.

A continuación, la representación gráfica mediante prueba de Tukey:

Figura 31. ICs simultáneos de 95% de Tukey.



Los intervalos de confianza de las 3 corridas de validación, para la prueba de TOC con un 95% de confianza a continuación:

Figura 32. Gráfica de intervalos TOC4 vs Muestreo4.



Medias				
Muestreo4	N	Media	Desv.Est.	IC de 95%
1	4	89.48	18.19	(71.09, 107.86)
2	4	100.89	18.25	(82.50, 119.28)
3	4	125.67	11.36	(107.29, 144.06)
<i>Desv.Est. agrupada = 16.2574</i>				

Como puede observarse la tercera corrida es la que tiene valores más altos, al revisar el consolidado de datos, se observa que esta variación está siendo causada principalmente por los valores obtenidos en la manguera blanca para la tercer corrida de validación, sin estos valores altos, los intervalos de confianza serían parecidos, por tanto, puede decirse que en esta corrida se obtuvo un valor más alto indicando que hubo alguna dificultad en la limpieza de la manguera blanca, se habla de dificultad, debido a que todos los puntos se encuentran dentro del criterio de aceptación, sin embargo, el ejercicio ejecutado es para entender en mejor detalle los resultados del ejercicio. El análisis nos permite entender que los resultados de TOC de la tercera corrida son más altos que en las dos corridas anteriores.

- Áreas:

Al igual que las mangueras, las áreas son superficies diferentes y por tanto conviene realizar un análisis independiente.

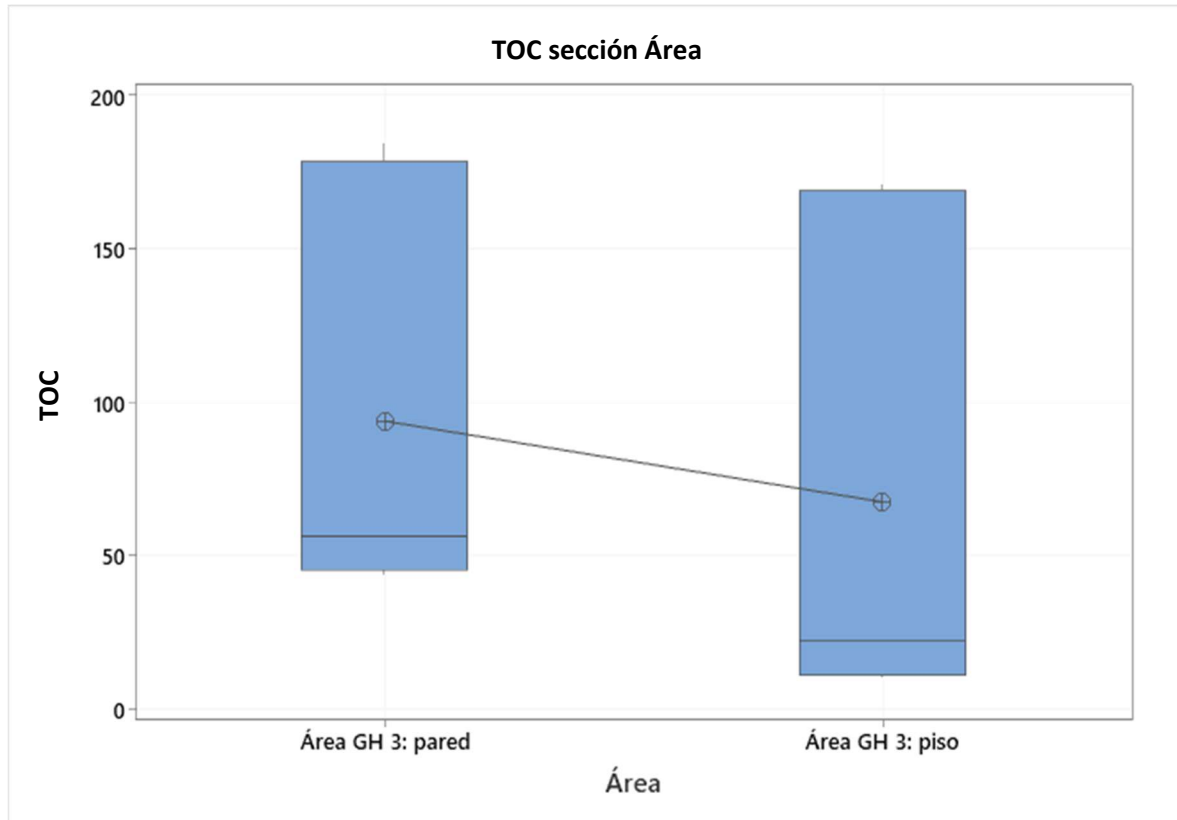
Los puntos de análisis son el 15 (pared) y el 16 (piso), los resultados de los puntos a continuación:

Tabla 24. Áreas.

Área	Muestreo5	TOC5
Área GH 3: pared	1	43.95
Área GH 3: pared	1	46.13
Área GH 3: pared	2	54.22
Área GH 3: pared	2	58.70
Área GH 3: pared	3	184.57
Área GH 3: pared	3	176.57
Área GH 3: piso	1	10.49
Área GH 3: piso	1	11.38
Área GH 3: piso	2	20.75
Área GH 3: piso	2	23.95
Área GH 3: piso	3	170.98
Área GH 3: piso	3	168.29

La primera aproximación, consistió en analizar el comportamiento de los datos en el gráfico de cajas y bigotes:

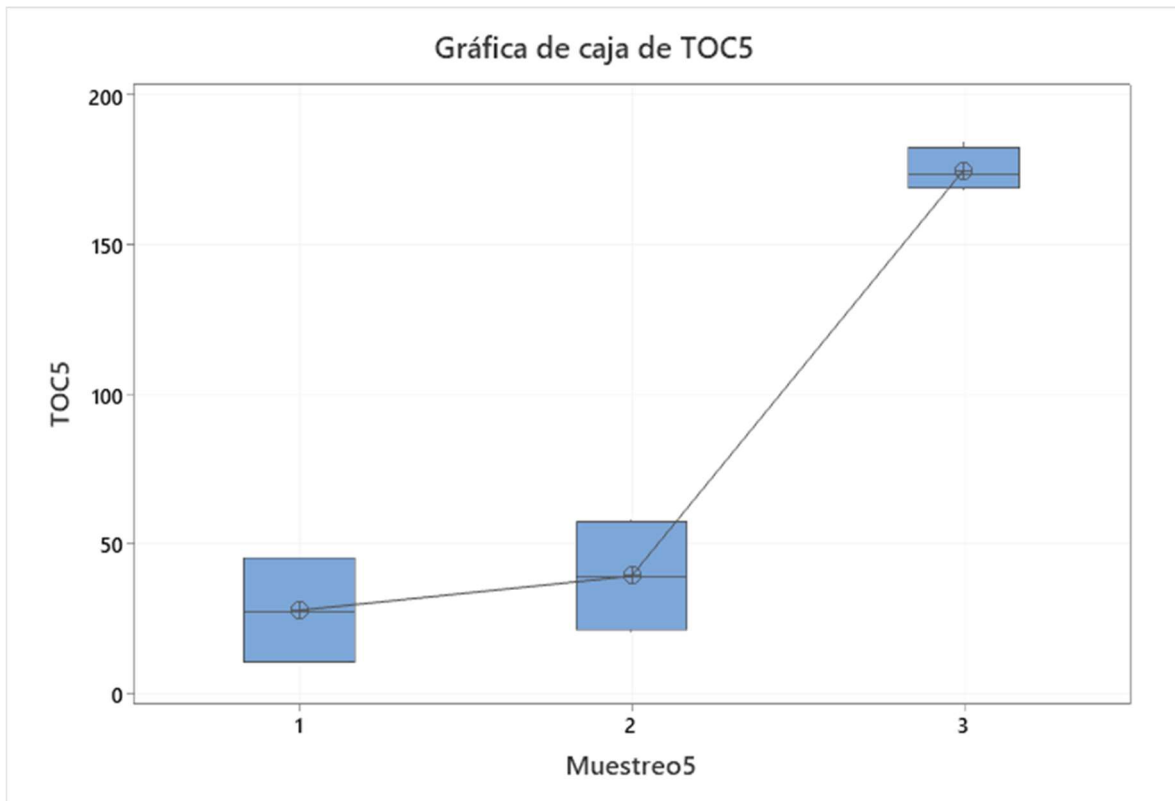
Figura 33. TOC sección área.



En este caso las superficies de pared y piso presentan variaciones similares, aunque el promedio de TOC de estas es mayor en la pared, en este caso dadas las similitudes no se recomienda un análisis adicional, al tratarse de los mismos resultados y la variación, es posible asumir que los resultados del proceso de limpieza son equivalentes en las superficies del área de la línea multiproducto.

A continuación, se corrió el análisis de para las corridas de validación y entender mejor la variación entre los ejercicios de las diferentes corridas. El primer análisis ejecutado fue el gráfico de cajas y bigotes:

Figura 34. Gráfica de cajas de TOC5.



Como se puede observar en el análisis de cajas y bigotes, la tercera corrida de validación se encuentra lejos del comportamiento de las primeras 2, en esta etapa es posible anticipar que la tercera corrida de validación tuvo algún problema de ejecución en la limpieza del área.

A continuación, se realizó un análisis de ANOVA para confirmar la observación:

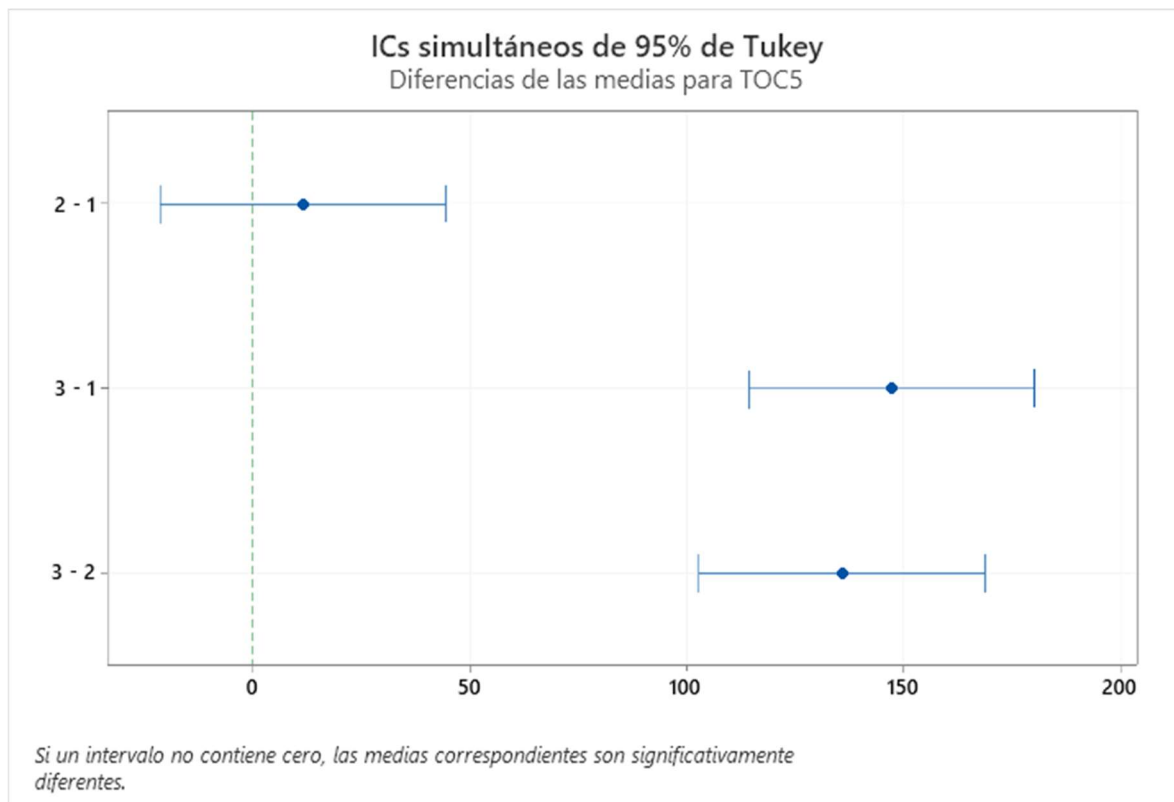
Figura 35. ANOVA.

ANOVA de un solo factor: TOC vs Areas							
<b>Método</b>							
Hipótesis nula	Todas las medias son iguales						
Hipótesis alterna	No todas las medias son iguales						
Nivel de significancia	$\alpha = 0.05$						
<i>Se presupuso igualdad de varianzas para el análisis.</i>							
<b>Información del factor</b>							
<b>Factor</b>	<b>Niveles</b>	<b>Valores</b>					
Muestreo5	3	1, 2, 3					
<b>Análisis de Varianza</b>							
<b>Fuente</b>	<b>GL</b>	<b>SC Sec.</b>	<b>Contribución</b>	<b>SC Ajust.</b>	<b>MC Ajust.</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor p</b>
Muestreo5	2	53583	95.54%	53583	26791.4	96.46	0
Error	9	2500	4.46%	2500	277.7		
Total	11	56082	100.00%				
<b>Resumen del modelo</b>							
	<b>S</b>	<b>R-cuad. d. (ajustado)</b>	<b>PRESS-cuad. (pred)</b>				
	16.6654	95.54%	4443.75	92.08%			
<b>Medias</b>							
	<b>Muestreo5</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Desv.Est.</b>	<b>IC de 95%</b>		
	1	4	27.99	19.72	(9.14, 46.84)		
	2	4	39.4	19.82	(20.56, 58.25)		
	3	4	175.1	7.19	(156.25, 193.95)		
<i>Desv.Est. agrupada = 16.6654</i>							
<b>Comparaciones en parejas de Tukey</b>							
<i>Agrupar información utilizando el método de Tukey y una confianza de 95%</i>							
	<b>Muestreo5</b>	<b>N</b>	<b>Media</b>	<b>Agrupación</b>			
	3	4	175.1	A			
	2	4	39.4	B			
	1	4	27.99	B			
<i>Las medias que no comparten una letra son significativamente diferentes.</i>							
<b>Pruebas simultáneas de Tukey para diferencias de las medias</b>							
	<b>Diferencia de niveles</b>		<b>de las medias</b>	<b>de diferencia</b>	<b>IC de 95 %</b>	<b>Valor T</b>	<b>P ajustado</b>
'2 - 1	11.4		11.8	(-21.5, 44.3)	0.97	0.613	
'3 - 1	147.1		11.8	(114.2, 180.0)	12.48	0	
'3 - 2	135.7		11.8	(102.8, 168.6)	11.52	0	
<i>Nivel de confianza individual = 97.91%</i>							

Puede observarse que el valor P, se encuentra por debajo de 0.05 y por tanto las medias de las corridas no son iguales, se observa que las variaciones corresponden a la tercera corrida.

La prueba de Tukey también permite confirmar la observación:

Figura 36. ICs simultáneos de 95% de Tukey.



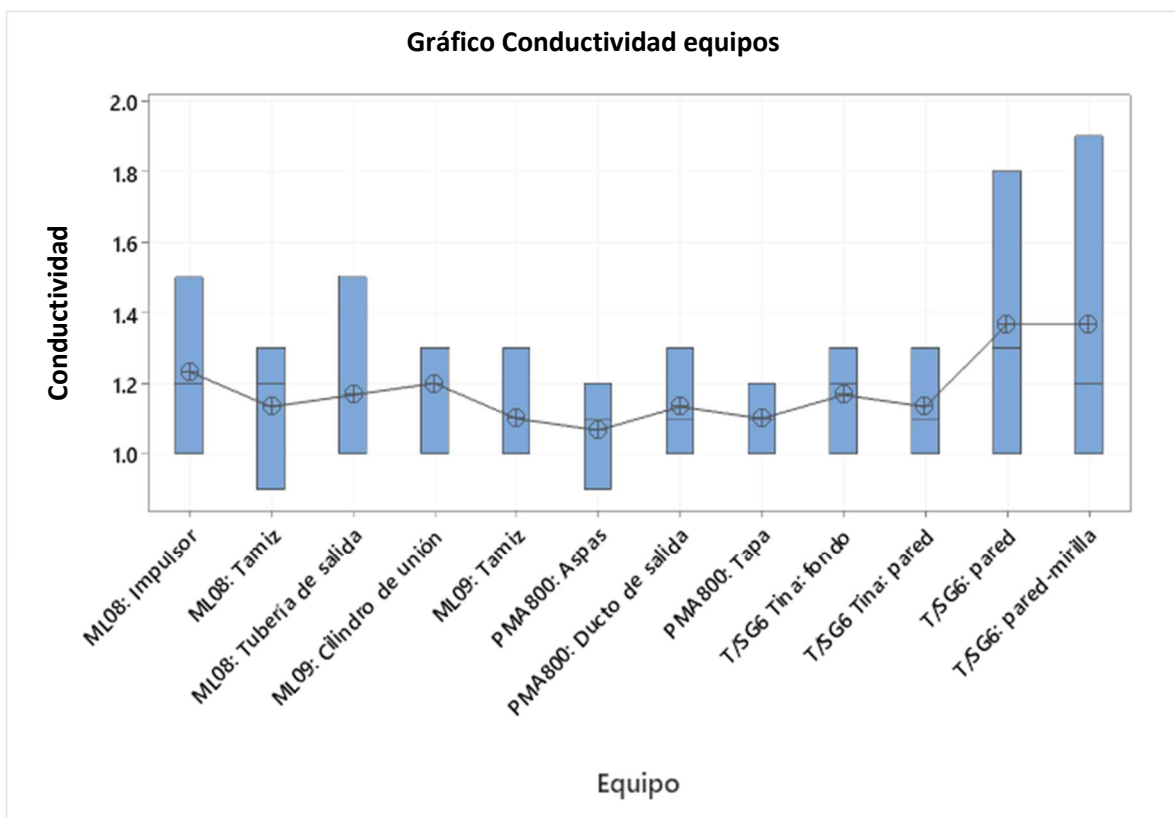
En este caso es posible entonces aseverar que la limpieza de la tercera corrida tuvo alguna situación atípica, ya que los intervalos son comparables para la primera y la segunda corrida, no así para la tercera. Siendo esto atribuible a la ejecución de la limpieza.

Conforme a lo anterior, los análisis de TOC, nos pueden dar una referencia adecuada acerca del proceso de limpieza y nos permiten entender en la mayoría de los casos los temas donde se presentaron dificultades en la limpieza, o bien algún tema de muestreo. Adicional al análisis de TOC, también existen otras 2 pruebas que nos arrojan valores de variable continua que son valiosos para el análisis, en este caso contamos con la variable conductividad y PH, en estos casos, la experiencia indica que las pruebas no son tan exactas como la prueba de TOC, en estos casos los dispositivos de medición no tienen tantas cifras significativas como el TOC, sin embargo, también permiten obtener referencia sobre el comportamiento del proceso de limpieza.



- Conductividad. Esta prueba mide la cantidad de sales presentes en el agua, la referencia puede ser que, si se encuentran trazas de activo o detergente disueltas en el agua, estas podrían ser captadas por el conductivímetro, para el análisis de datos se decidió conjuntar el total de resultados y agruparlos en el modelo de gráfico de cajas y bigotes para poder entender la variación total por equipo y determinar si existían datos adicionales que aportar al análisis previamente obtenido:

Figura 37. Gráfico Conductividad equipos.

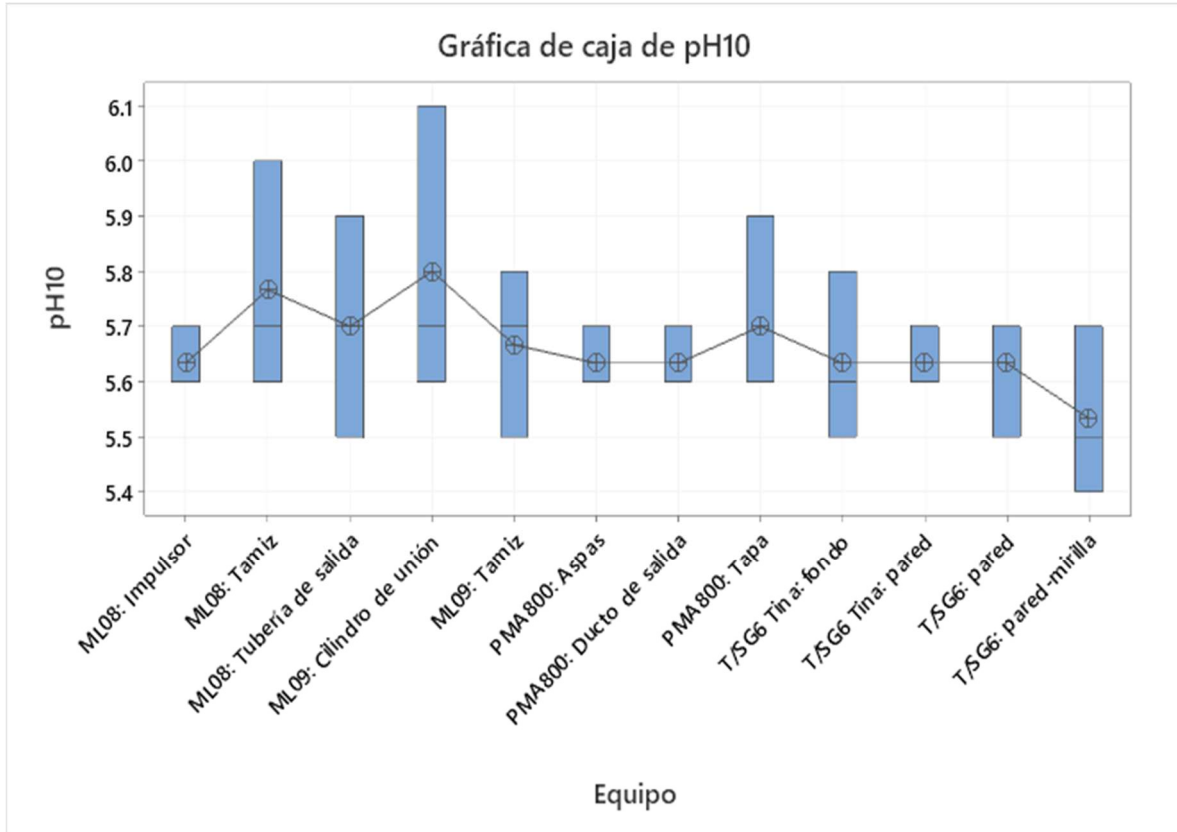


El ejercicio permite confirmar las zonas de mayor variación como la zona de Molino Quadro Comil ML08 y la zona del granulador Freeweight ML09, por lo tanto, las observaciones identificadas mediante los análisis de la prueba de TOC, confirman su validez.

- PH: La prueba de PH también puede aportarnos observaciones, tomando como base que se determina el PH de agua y las variaciones de este valor, también se deben a potenciales trazas de activo, o bien a detergente, al igual que en la

prueba de conductividad, se buscó realizar el análisis en cajas y bigote para determinar la existencia de observaciones adicionales:

Figura 38. Gráfica de caja pH10.



Conforme al gráfico, se puede observar que las zonas de mayor variación también son el Molino Quadro Comil ML08 y el granulador Freeweight ML09, en este caso al igual que en análisis de TOC la zona del secador presenta puntos y lecturas que causan variación, el estudio también permite confirmar el análisis obtenido para la prueba de TOC.

## 10. CONCLUSIONES

- General:

Se desarrolló la validación de limpieza de un área farmacéutica multi-producto, comprobando que es efectiva para la remoción del API Peor Caso Flagyl tabletas 500 mg, en la línea de granulación 3, permitiendo la detección de nivel de trazas dentro de límites preestablecidos.

- Particulares:

1. Se definió el peor caso de la línea multiproducto: API Flagyl 500 mg.
2. Se determinó el límite máximo permitido de residuo como **2.0 µg/cm<sup>2</sup>**
3. Se desarrolló un protocolo de validación para verificar los controles de limpieza tras la ejecución del procedimiento de validación.
4. Se definió un plan de muestreo posterior a la limpieza y se establecieron los criterios bajo los cuales se tomaron las muestras.
5. Se obtuvieron análisis de trazas exitosos, ya que todos los resultados cumplieron con los criterios de aceptación.

## 11. REFERENCIAS

- [APIC] - Active Pharmaceutical Ingredients Committee - Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants, Pág. 8. (01 de Feb de 2021). *[APIC] - Active Pharmaceutical Ingredients Committee - Guidance on aspects of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants – May 2014*. Obtenido de ECA: [https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/APIC\\_Cleaning-validation-guide\\_2021.pdf](https://www.gmp-compliance.org/files/guidemgr/APIC_Cleaning-validation-guide_2021.pdf)
- Altman, T. (Septenber de 2020). *Developing a Science - Risk & Statistics based approach to cleaning process development & Validation*. Obtenido de Pharmaceutical on line.
- ASTM. (18 de Ene de 2022). *Standard Guide for Science-Based and Risk-Based Cleaning Process Development and Validation (astm.org)*. Obtenido de ASTM: <https://www.astm.org/e3106-18e01.html>
- Atkins, 1. e.-8. (2018). Physical Chemistry. En P. Atkins, *Physical Chemistry* (págs. 823-835). United Kingdom: Oxford University.
- Broderick, E., & Cleaning Validation a regulatory perspective, P. 6.-1. (01 de Aug de 2017). Australian Government. Australia: TGA. Obtenido de Therapeutic Goods Administration: <https://www.tga.gov.au/sites/default/files/presentation-cleaning-validation.pdf>
- Cleaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, and Controls ISPE Cleaning Validation Guideline; Capítulo 6. (2020, August). *Cleaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, and Controls ISPE Cleaning Validation Guideline*. U.S.A.: ISPE.
- EudraLex Volume 4 – Good Manufacturing Practice; Capítulos: 3.6, 3.9, 3.14, 5.11, 5.18, 5.19; 5.20 y Anexo 15. (02 de Jul de 2011). *Eudralex Volume 4 – EU Guidelines to Good Manufacturing Practice, Medicinal Products for Human and Veterinary Use Chapters 3.6, 3.9, 3.14, 5.11, 5.18, 5.19 and 5.20 and Annex 15*. Obtenido de Eudralex Volume 4: [https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4\\_en](https://health.ec.europa.eu/medicinal-products/eudralex/eudralex-volume-4_en)
- EudraLex Volume 4 - Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines; Capítulos: 1; 1.8. (02 de Jul de 2011). *EudraLex Volume 4 - Good Manufacturing Practice (GMP) Guidelines Chapter 1; 1.8*. Obtenido de Eudra Lex Volume 4: [http://xpro-asso.com/gxp/eudralex\\_v27/contents/vol-4/vol4-chap1\\_2013-01\\_en.pdf](http://xpro-asso.com/gxp/eudralex_v27/contents/vol-4/vol4-chap1_2013-01_en.pdf)
- 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. (01 de Junio de 2015). *EMA*. Obtenido de EMA: [https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-setting-health-based-exposure-limits-use-risk-identification-manufacture-different\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-setting-health-based-exposure-limits-use-risk-identification-manufacture-different_en.pdf)
- FDA: GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES. (26 de Aug de 2014). *Validation of Cleaning Processes*. Obtenido de US Food and Drug Administration:

<https://www.fda.gov/inspections-compliance-enforcement-and-criminal-investigations/inspection-guides/validation-cleaning-processes-793>

FDA; Code of Federal Regulations Title 21; numeral 211.67. (20 de Jul de 2022). *Code of Federal Regulations Title 21*. Obtenido de U.S. Food and Drug Administration:  
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=211.67>

FDA; Code of Federal Regulations Title 21; numeral 211.67. (20 de Jul de 2022). *FDA CFR- Code of Federal Regulations Title 21; CITE: 21CFR211.67*. Obtenido de Code of Federal Regulations Title 21:  
<https://www.accessdata.fda.gov/scripts/cdrh/cfdocs/cfcfr/CFRSearch.cfm?fr=211.67>

FDA; Questions and Answers on Current Good Manufacturing Practice Requirements | Equipment. (15 de Sep de 2022). *Code of Federal Regulations Title 21*. Obtenido de FDA:  
<https://www.fda.gov/drugs/guidances-drugs/questions-and-answers-current-good-manufacturing-practice-requirements-equipment#TOC>

Guideline on setting health based exposure limits for use. (20 de Nov de 2014). *Guideline on setting health based exposure limits for use*. Obtenido de EMA Europa EU:  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-setting-health-based-exposure-limits-use-risk-identification-manufacture-different\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-setting-health-based-exposure-limits-use-risk-identification-manufacture-different_en.pdf)

Guideline on setting health based exposure limits for use; Págs. 4- 8. (20 de Nov de 2014). *EMA Europa EU*. Obtenido de Guideline on setting health based exposure limits for use:  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-setting-health-based-exposure-limits-use-risk-identification-manufacture-different\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/guideline-setting-health-based-exposure-limits-use-risk-identification-manufacture-different_en.pdf)

Health Canada: Cleaning validation guide (GUI-0028); Capítulo 7. (29 de Jun de 2021). *Cleaning validation guide (GUI-0028) - Summary - Canada.ca*. Obtenido de Government of Canada:  
<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/compliance-enforcement/good-manufacturing-practices/validation/cleaning-validation-guidelines-guide-0028.html>

NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numeral: 3.124. (05 de Feb de 2016). *NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*. Obtenido de Diario Oficial de la Federación:  
[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0)

NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numeral: 3.88. (05 de Feb de 2016). *NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*. Obtenido de Diario Oficial de la Federación:  
[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-)

NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numeral: 9.11.2. (05 de Feb de 2016). *NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*.

Obtenido de Diario Oficial de la Federación:

[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0)

NOM-059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numerales: 3.125 y 3.66.

(05 de Febrero de 2016). *Norma Oficial Mexicana, NOM-059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*. Obtenido de Diario Oficial de la Federación:

[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-)

NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numerales: 3.28; 3.29;

3.30 y 9.9.2.2.2). (05 de Feb de 2016). *Norma Oficial Mexicana, NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*. Obtenido de Diario Oficial de la

Federación:

[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-)

NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos; numerales: 9.9.2.1;

9.9.2.2 y 9.9.2.3. (05 de Feb de 2016). *NOM059- SSA1-2015, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*. Obtenido de Diario Oficial de la Federación:

[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0](https://dof.gob.mx/nota_detalle.php?codigo=5424575&fecha=05/02/2016#gsc.tab=0)

NOM-059-SSA1-2015 Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos, numeral: 3.123. (05 de Febrero de 2016). *NOM-059-SSA1-2015 Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos*.

Obtenido de Diario Oficial de la Federación:

[https://dof.gob.mx/nota\\_detalle\\_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-](https://dof.gob.mx/nota_detalle_popup.php?codigo=5424575#:~:text=DOF%20-%20Diario%20Oficial%20de%20la%20Federaci%C3%B3n%20NORMA,el%20Escudo%20Nacional%2C%20que%20dice%3A%20Estados%20Unidos%20Mexicanos.-)

PDA. (2012). *PDA Technical Report No. 29 - Points to Consider for Cleaning Validation*. Bethesda, USA: PDA.

Pharmaceutical Engineering. (2011). *Cleaning Validation for the 21st Century. Acceptance Limits for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs): Part I*.

PIC/S PI006-3 – Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, non-sterile Process Validation, Cleaning Validation, Págs. 17-20). (25 de Sep de 2007). *[PIC/S PI006-3] – Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme – Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, non-sterile Process Validation, Cleaning Validation*. Obtenido de [picscheme.org](https://picscheme.org/docview/3447): <https://picscheme.org/docview/3447>

PICS - Guideline on setting HBEL for use in risk identification in the mfg of different prod in share facilities. (01 de Julio de 2018). *PICScheme.org*. Obtenido de PICS:

<https://picscheme.org/docview/2467>

- PICS: Questions and answers on implementation of risk-based. (01 de Jun de 2020). *Questions and answers on implementation of risk-based*. Obtenido de PICS:  
[https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-implementation-risk-based-prevention-cross-contamination-production-guideline\\_en.pdf](https://www.ema.europa.eu/en/documents/other/questions-answers-implementation-risk-based-prevention-cross-contamination-production-guideline_en.pdf)
- Vesper, J. L.-1. (2006). Risk Assessment and Risk Management in the Pharmaceutical Industry, pp 176- 179. En J. L. Vesper, *Risk Assessment and Risk Management in the Pharmaceutical Industry* (págs. 176 -179). Baltimore: PDA.
- Walsh, A. (2011). Acceptance Limits for API. *Pharmaceutical Engineering*, 74-83.
- Walsh, A. (Dec/Nov 2011). Overview of New ISPE Cleaning Guide. *Pharmaceutical Engineering*, 3-7.
- WHO Drug Information Volumen 34 Número 2 – Points to consider on the different approaches ; Sección 5. (29 de Jul de 2020). *WHO TRS 986 annex 2 – WHO Good manufacturing practices for pharmaceutical products: main principles*. Obtenido de World Health Organization: [https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/trs986annex2.pdf?sfvrsn=320c9e62\\_1&download=true](https://cdn.who.int/media/docs/default-source/medicines/norms-and-standards/trs986annex2.pdf?sfvrsn=320c9e62_1&download=true)
- World Health Organization: Quality Assurance Of Pharmaceuticals, Sección 12. (2007). *Quality Assurance Of Pharmaceuticals*. India: WHO Press.



**VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Carlos Israel Vera Vélez

Título de la tesis: "Validación de limpieza de una línea multi-producto"  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

**Grado a obtener:**

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Sergio Alcalá Alcalá

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

                    e-firma UAEM                      
Firma del miembro del jurado

                    17-10-2022                      
Fecha





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

SERGIO ALCALA ALCALA | Fecha:2022-10-17 11:04:06 | Firmante

Df196v8tkMIZBvRT40+PoCedoMSw6UvAAyY95AAPi9jeU+7VVK34skOvbQYQW090J2GFc4b2/aCvEEBREigYFnaRfUjeZskT2thEMmgudhCu3/C-4F5pm+xx2ctf4Kw  
m1G+4GQ6a5mJWnQQ1LWMiniC1BBVrZoMxYbDoO0WawwAJVWIMXTJqmETV/mQKBwdAQnyERvmmDIUKIPbmiuziO+zFLYaOMN1jTu2ih+1C6nL0nNBto+KkcfUp7  
NsQ[BmiGBIh4QcAvONkaZDD20IwcTDBSWIEJDFTOPZcXkdNu2bvnXCfPxtSRbMzbOvRkLUR00P9vwoQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



HYOnEKUIQ

<https://firma.uaem.mx/noRepudioFG7cDiyGA7yhwoArqWIMTRJKQ7zuaQTP>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023



**VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

**Nombre del alumno:** Carlos Israel Vera Vélez

**Título de la tesis:** "Validación de limpieza de una línea multi-producto"

**Grado a obtener:**

- Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

**Miembro del jurado:** Dra. Adriana Valladares Méndez

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

- Sí se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

**Observaciones (solo en caso de rechazo):** \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

e-firma UAEM  
 Firma del miembro del jurado

25-10-2022  
 Fecha

nte (flecha derecha)



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL  
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

ADRIANA VALLADARES MENDEZ | Fecha: 2022-10-26 09:02:07 | Firmante

UsoqXuezmsIGobXAH1BeFUAZHuPiQwrsZ16gHsKlwVST3+VAcbtjvKGM4hq+rDeHCvQ4vaTzHiAeP+xbZDZIZ1BEFLDULs4pOUYS(AesQdl8mS2ztgZTOWrJmTseEgggSO  
qFzTqjWSvo3Gx2gztOUQw4VUiqtoz4xCuP8ydhIndvHrRee)GTFxHw6APVnyKv59m8Mu58PDWlqEH6+OdyrQbnNjDjOGdT4sPXqXDWaNdOOhaUuKDRZmUaedL7NE  
nxAhyhnyobhEBOBipxPZvWLDTO8JjMmVx6RqGqgUTc7avZ5wC17bF9x78DvVCP8yOSbjvtFJNrgPQ---



Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:

tn6TazYof

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/yZrfkiegZnx0pvOqO8ZCHwRG2I1eWMRU>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023



**VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM**

Nombre del alumno: Carlos Israel Vera Vélez

Título de la tesis: "Validación de limpieza de una línea multi-producto"  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: MenC. Luis Roberto Genis Nájera

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:  
La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

e-firma UAEM  
Firma del miembro del jurado

25-10-2022  
Fecha



Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

LUIS ROBERTO GENIS NÁJERA | Fecha:2022-10-25 18:45:44 | Firmante  
 I7fq5S5fUn8JQvarEpYyDXUdfjMkyK9uJDoOcyhEWAKXf8UddDcVlKtyNsg1mf7De5VShd5AyGfHrjK2UU3VXCgGomckL+hcFYc0e7UUB52n9KCoBII/1hPqLLo1c+EE72or  
 Op8hP2NlUKvB6+yoNksGoKtuyVR9xE9oRUtaACF+/BQyXldhvi/GWkIWLepizAHrFpeh3QH6ZC0VPCc5XuStV9KXmh4WG/hKdSuohJR2Yc51Xh3Zi/9e14Bjgg/F4dJT9F  
 6GTvkSxD2Y2PohuLHg7jhKWc2B2az0YxU9uFOhrUqENvKIcyy3BWi3OYmWgwUztVbatCjpG8iWg--

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o  
 escaneando el código QR Ingresando la siguiente clave:



z27Paveng

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/R7VhMoDcq4WmmfmyrPktWcbPXN5e1SG>



VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Carlos Israel Vera Vélez

Título de la tesis: "Validación de limpieza de una línea multi-producto"  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dr. Efrén Hernández Baltazar

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

e-firma UAEM  
Firma del miembro del jurado

25-10-2022  
Fecha







VOTO APROBATORIO  
PROGRAMA DE POSGRADO EN FARMACIA  
FACULTAD DE FARMACIA DE LA UAEM

Nombre del alumno: Carlos Israel Vera Vélez

Título de la tesis: "Validación de limpieza de una línea multi-producto"  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

Grado a obtener:

Maestría en Farmacia  
 Doctorado en Farmacia

Miembro del jurado: Dra. Mariana Ortiz Reynoso

La tesis fue leída y se le hicieron las observaciones pertinentes, de tal forma que mi decisión es:

La tesis:

Sí se aprueba tal como se presenta  
 Se rechaza

Observaciones (solo en caso de rechazo):  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_  
\_\_\_\_\_

e-firma UAEM  
Firma del miembro del jurado

25-10-2022  
Fecha





Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

**Sello electrónico**

MARIANA ORTIZ REYNOSO | Fecha: 2022-10-26 16:43:37 | Firmante  
 Shc9BQUdcSYmoa6OzoLUL\*GtWwIFeah7saNzdMdsWGOzb1xGGe2cKqGrJ0cXXxtTXDgS35Akg04bQpFGCx2honenIE3NXYYMYToP11LKw004spapd0SGIEe+g3XHfan+MDi29m7HnQ7q8bNqLc+7ONmX1ZHZLSJPoqY7TeOU1e4BE/KS/vj4GEuKMfuyqDwJstzdrfW3reeMwrepDU7bQMD6pnleR7UxkADEakxMoPLWCXFr+YBr3S/WDbPOOEA43Q2Te4bJDBGubSokNSN03NuznR/MniQ+RUngpX7bzq+727F62gKIBAnovirnbxAzJDiKHTwanFH5KHhe==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



SJxFN12M0

<https://efirma.uaem.mx/InoRepudicoinDb/VhULIYX7S58JtWwyfp3483zWGU>



Una universidad de excelencia

RECTORÍA  
2017-2023