

Validación de Limpieza

Q.F. Serrana Sánchez

Q.F. Romina Espinosa

Objetivos de la limpieza de equipos/ áreas

- Eliminar la suciedad y cualquier residuo indeseable remanente de un proceso de producción, independiente de su origen y composición.

- Implica:
 - ✓ Eliminar/ Reducir niveles de principio activo del producto anterior.
 - ✓ Reducir niveles microbiológicos
 - ✓ Eliminar/Reducir agente de limpieza utilizado

La limpieza es una parte fundamental

- ▶ Limpiar no es solamente “pasar un trapo”.
 - ☑ Hay que saber qué trapo pasar,
 - ☑ dónde pasarlo,
 - ☑ con qué pasarlo,
 - ☑ cuándo pasarlo.

- ▶ NO alcanza con eliminar lo visible
 - ☑ Normalmente hay también que desinfectar y eliminar lo invisible.

La limpieza es una parte fundamental

Limpieza + Desinfección = Sanitización.

¿Por qué Validamos Limpieza?

- ▶ Porque un producto farmacéutico:
 - ☑ Debe contener lo que indica el rótulo en la cantidad declarada
 - ☑ No debe contener sustancias extrañas
 - ☑ NUNCA debe contener microorganismos patógenos

6

¿Por qué Validamos Limpieza?

Pero además:

- ✓ en algunos casos NO debe contener ningún microorganismo vivo.
- ✓ en algunos casos que las cantidades de microorganismos muertos sean también limitadas (límite de pirógenos)

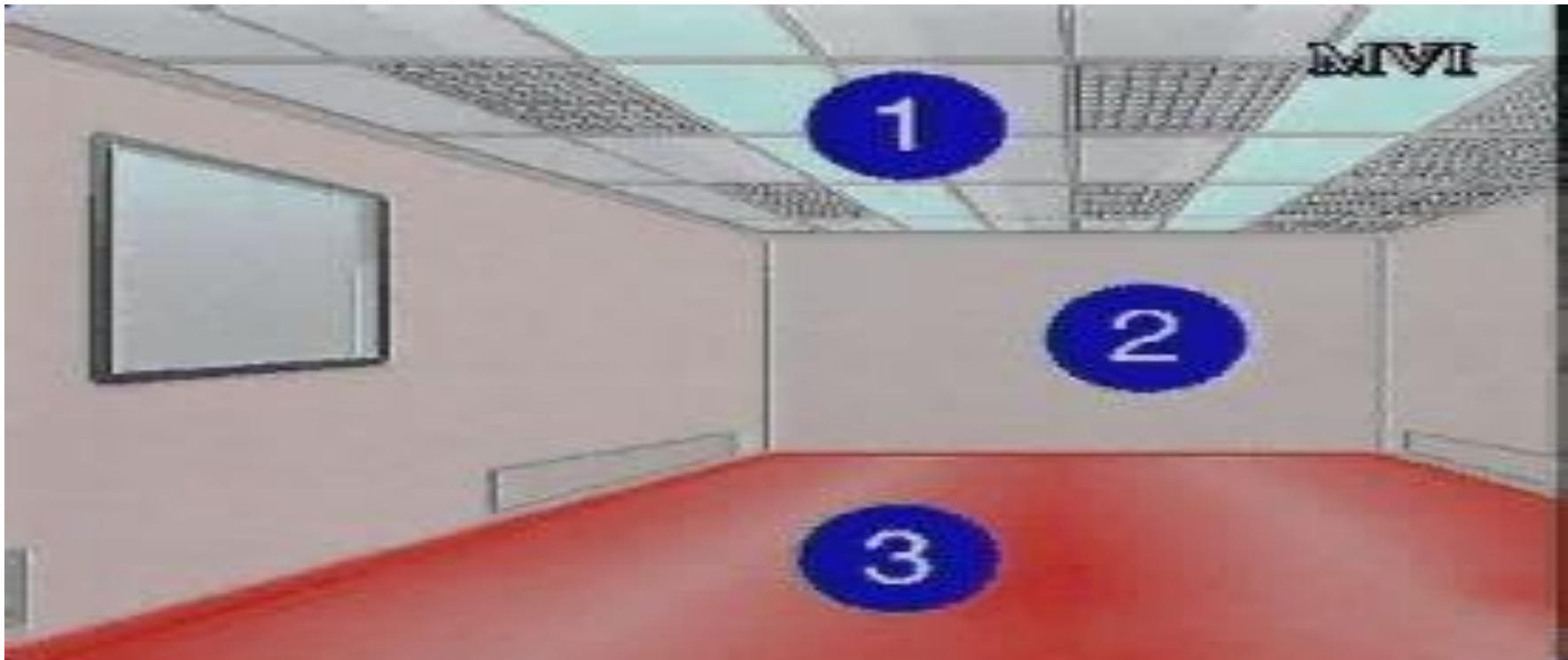
Etapas de la limpieza

- Física: sacar lo visible
- Química: usar detergente por ejemplo
- Microbiológica: eliminar microorganismos o disminuir su número

Orden en la limpieza

8

1. De arriba hacia abajo
2. De más limpio a menos limpio



Definición Validación de limpieza:

Evidencia documentada que establece que los procedimientos de limpieza remueven los residuos a niveles aceptables predeterminados, considerando factores tales como: tamaño de lote, dosis, toxicidad y tamaño del equipamiento

► FDA:

- ✓ 21CFR Sec. 211.67 Equipment cleaning and maintenance. (Rev 2018)
- ✓ Questions and Answers on Current Good Manufacturing Practice Requirements | Equipment (No legalmente vinculante)
- ✓ Validation of Cleaning Processes (7/93) GUIDE TO INSPECTIONS VALIDATION OF CLEANING PROCESSES (2014) (No legalmente vinculante)

► EMA (2015), Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities

- ✓ Definición de límites considerando PDE de acuerdo al Apéndice 3 de ICH Q3C (R4).
- ✓ Q&A en la implementación de la guía (2018).

► OMS

- ✓ Reporte 44, Anexo 2 (2010)
- ✓ Reporte 53 Anexo 3 (2019).
- ✓ DRAFT WORKING DOCUMENT FOR COMMENTS:
QAS/20.849/Rev.1 Points to consider when including Health-Based Exposure Limits (HBELs) in cleaning validation (Agosto 2020)

► PIC/S

- ✓ GUIDELINE ON SETTING HEALTH BASED EXPOSURE LIMITS FOR USE IN RISK IDENTIFICATION IN THE MANUFACTURE OF DIFFERENT MEDICINAL PRODUCTS IN SHARED FACILITIES (2018)
- ✓ Aide Memoire
 - CROSS-CONTAMINATION IN SHARED FACILITIES (2018)
 - INSPECTION OF HEALTH BASED EXPOSURE LIMIT (HBEL) ASSESSMENTS AND USE IN QUALITY RISK MANAGEMENT (2020)

► ISPE

- ✓ Baseline Guide Vol 7: Risk-Based Manufacture of Pharma Products 2nd Edition ISPE Risk-MaPP
- ✓ Cleaning Validation Lifecycle - Applications, Methods, and Controls ISPE Cleaning Validation Guideline (2020)

► PDA:

- ✓ Technical Report 29: Points to Consider for Cleaning Validation PDA TR 29
- ✓ Technical Report 49: Points to Consider for Biotechnology Cleaning Validation PDA TR 49

► Health Canada

- ✓ GUI 0028 (2021)

¿Por qué validación de limpieza?

- Evitar la contaminación cruzada.
- Asegurar la consistencia en los procedimientos de limpieza.
- Reducir los controles en proceso.
- Mantener la integridad y seguridad del producto.
- Es requisito de GMP

Antecedentes históricos

14

Producto	Causa	Efecto	Año/País
Tabletas de vitaminas y minerales pediátricas	Contaminación cruzada con estrógenos por limpieza defectuosa del equipo	Aparición de caracteres sexuales secundarios en niños de 5 a 10 años	1958 EEUU Otro caso similar en 1962
Soluciones de dextrosa de gran volumen	Malas condiciones sanitarias del laboratorio fabricante y procedimientos deficientes	Varias pacientes muertos en un centro hospitalario	1990 Colombia

- ▶ Los criterios de aceptación visual de la eficacia de la limpieza son recomendables pero no pueden ser el único criterio. Un criterio visual es que el agua deslice fácilmente la superficie del equipo.
- ▶ Es aceptable efectuar controles analíticos de verificación después de la limpieza hasta que no se pueda validar.
- ▶ Si se dispone de métodos automáticos de limpieza, los límites del funcionamiento de estos equipos deben estar validados.
- ▶ En cambio, si los métodos son manuales hay que estudiar las fuentes de variabilidad (grado de eficiencia de los operarios o tiempos o volumen de agua de aclarado) con los que se llevan a cabo. Una vez determinadas las fuentes y los rangos de variabilidad, la validación debe hacerse en las condiciones definidas como las más desfavorables.
- ▶ La validez de las conclusiones deber revalidarse de manera periódica.

- NO puede validarse la limpieza por equipo, sino en un tren de equipos, ya que hay que tener en cuenta el efecto acumulativo, a menos que se justifique lo contrario. Caso de un equipo que se utiliza un día diferente al resto de los equipos involucrados (ejemplo: paila, blistera).
- Se han de considerar la susceptibilidad a la contaminación y la proliferación microbiológica para determinar los límites aceptables de contaminación microbiológica después de la limpieza.
- Lo mismo para el contenido de endotoxinas, si es necesario.
- La validación determina los máximos intervalos de tiempo antes de la limpieza y entre la limpieza y el uso.
- Si se hacen campanas de producción, se debe comprobar el impacto de la duración de éstas y comprobar la duración de la limpieza

- Es aceptable utilizar el caso más desfavorable para validar un solo método de limpieza, si éste se utiliza para limpiar diversos productos.
- Si no es posible decidir entre el más difícil de limpiar y el más tóxico es necesario determinar los límites máximos aceptables de los dos.
- Hay que definir como mínimo un caso mas desfavorable para cada método de limpieza.
- Si sale un pico anómalo en el perfil cromatográfico hay que analizarlo y consultar su toxicidad ya que si es más tóxico que el residuo buscado, hay que utilizar este producto en el cálculo de límites.

Criterios de validación de limpieza



18

- ▶ Los protocolos de validación de los métodos de limpieza han de determinar el racional en que se basa la selección de los puntos muestreados y los límites aceptables de residuo en cada uno de ellos.
- ▶ Se aceptan los métodos de muestreo en superficie (hisopado - swab) y de aclarado (enjuague - rinsing) en forma combinada según el equipo.
- ▶ Se deben presentar datos sobre el grado de recuperación de todos los métodos de muestreo empleados.
- ▶ En Europa la validación de limpieza de áreas no es una exigencia. A veces se realiza por seguridad para el personal.

Criterios de validación de limpieza

- ▶ Para la producción de medicamentos en investigación que se fabrican ocasionalmente o donde se pueden fabricar gran cantidad de productos diferentes en los mismos equipos, es recomendable hacer verificaciones de la limpieza en lugar de utilizar un enfoque de tipo caso mas desfavorable.
- ▶ Si no es posible validar los métodos limpieza según los criterios expuestos hay que utilizar equipos dedicados.

Previo a la validación de limpieza

- Correcta identificación de los equipos
 - ☑ Registros (bitácoras)
 - ☑ Rotulación adecuada
- Mantenimiento / Calificación / Validación de los sistemas de apoyo crítico involucrados
- Procedimientos documentados.
- Personal calificado.
- Agentes de limpieza adecuados.
- Implementos de limpieza estandarizados.
- Métodos validados.

Requisitos para la validación de limpieza

► Procedimientos documentados.

- ☑ Deben ser claros y detallados.
- ☑ Deben indicar tiempos máximos de espera de equipos sucios (DHT – Dirty Hold Time)
- ☑ Deben indicar tiempo de validez de la limpieza (vigencia)
- ☑ Deben indicar agentes de limpieza/desinfección usados y diluciones de los mismos.
- ☑ Debe indicar tiempos de aplicación de los agentes de limpieza/desinfección.

Tiempo de espera de equipo sucio (DHT)

- Se toma en cuenta en la validación de limpieza
- Es importante definirlo porque:
 - ☑ Cuanto más demore en limpiar:
 - Más difícil puede ser la limpieza (producto adherido a las paredes del equipo).
 - más microorganismos tendré.
 - ☑ Si quedan restos de productos anteriores, pueden servir de alimento para los microorganismos.
 - ☑ Los microorganismos no se ven a simple vista, por lo tanto, para eliminarlos, tengo que trabajar de la manera adecuada y no guiarme por la idea de que si “brilla”, está limpio y no tiene microorganismos.

Validez de la limpieza

CHT (Clean holding time)

- Tiempo desde la limpieza hasta que se puede volver a utilizar sin mediar ninguna acción sobre el equipo.
- Que significa validez/vigencia de la limpieza?
 - ☑ Se determina durante la validación de limpieza.
 - ☑ Sólo del punto de vista microbiológico.
 - ☑ Pasado este tiempo debo realizar algún tipo de limpieza previo al uso del equipo.
 - Ej: Sanitización con alcohol 70 %

Validez de la limpieza en campaña

- Tiempo durante el cual puedo trabajar en campaña (varios días), realizando limpiezas parciales.
 - ☑ Se debe definir y considerar en la validación de limpieza.
 - ☑ Pasado dicho período debo realizar una limpieza completa aún cuando continúe trabajando en campaña.
 - ☑ Monitoreos microbiológicos del área y equipos

Requisitos para la validación de limpieza

► Personal calificado.

Capacitado en los procedimientos de limpieza.

Capacitado en las practicas básicas de higiene.

► Higiene personal .

► No comer, beber, fumar .

► No usara joyas, maquillaje.

► Informar si esta enfermo o tiene heridas.

Requisitos para la validación de limpieza

26

► Personal calificado.

- ☑ En procedimientos de limpieza manual, la capacitación del personal es de extrema importancia.
- ☑ La supervisión del personal debe ser efectiva
- ☑ Se debe considerar que el personal es un agente contaminante.

Requisitos para la validación de limpieza

- Agentes de limpieza/ desinfección adecuados.
 - ☑ Limpiadores alcalinos
 - ☑ Agentes surfactantes.
 - ☑ Agentes complejantes
 - ☑ Agentes secuestrante
 - ☑ Antiespumantes
 - ☑ Agentes oxidantes
 - ☑ Inhibidores de corrosión

Requisitos para la validación de limpieza

- Selección Agentes de limpieza/ desinfección
 - ✓ Amplio espectro
 - ✓ No tóxico
 - ✓ No corrosivo
 - ✓ Estable
 - ✓ Acción rápida
 - ✓ Que no se inactive con materia orgánica

Requisitos para la validación de limpieza

- Implementos de limpieza adecuados
 - ☑ Adecuados para el tipo de material a limpiar
 - ☑ Que no liberen fibras
 - ☑ Dedicados de ser necesario
 - ☑ Almacenamiento adecuado
 - Mantenerlos ORDENADOS
 - Mantenerlos LIMPIOS y SECOS
 - Separados e identificados por ZONA

RECOMENDACIONES PARA SU UTILIZACIÓN



30

- Leer cuidadosamente las instrucciones del fabricante y el procedimiento de la empresa.
- Preparar y utilizar los agentes químicos con los elementos de protección correspondientes.
- No mezclar otros agentes de limpieza con desinfectante a menos que el fabricante especifique que no existe incompatibilidad.
- Medir adecuadamente las cantidades de desinfectante en el momento de diluirlo utilizando recipientes graduados o medidas adecuadas.
- Preparar las soluciones de limpieza y desinfección siguiendo estrictamente el procedimiento escrito correspondiente. Cualquier cambio debe ser comunicado al responsable del sector.
- Respetar los procedimientos de aplicación.
- Respetar los tiempos de contacto.



Requisitos para la validación de limpieza

- Métodos validados.
 - ☑ Para determinación de límites de contaminantes
 - ☑ Métodos de muestreo.
 - Hisopado
 - Agua de enjuague

PMV

33

- La validación de limpieza se enmarca dentro del Plan Maestro de Validación de la empresa.
- Se debe definir
 - ☑ Cantidad de lotes
 - Mínimo 3 lotes consecutivos de producto. Enfoque de riesgo
 - ☑ Definición de límites de aceptación.
 - Principio activo
 - Detergente
 - Microbiológico
 - ☑ Criterios de selección del peor caso a validar (Si aplica)

Documentación

PMVL: Plan maestro de Validación de Limpieza

► Contenido

- ☑ Objetivo
- ☑ Alcance
- ☑ Introducción: Realizar una pequeña descripción del PMVL
- ☑ Glosario: significado de términos, acrónimos
- ☑ Referencias: Normas, exigencias de las autoridades sanitarias

PMVL

Responsabilidades:

- ▶ Elaboración de documentos
- ▶ Ejecución de muestreos
- ▶ Análisis químicos y microbiológicos.
- ▶ Aprobación final.
- ▶ Seguimiento.
- ▶ Entrenamiento de personal.

PMVL

- ☑ Política de validación
- ☑ Tipos de contaminante:
 - Químicos
 - Microbiológicos
 - Materiales no esperados
- ☑ Pasos previos a la validación
 - Identificación y Codificación de equipos
 - Registros
 - Mantenimiento / Calificación / Validación de los sistemas de apoyo crítico

PMVL

- Personal capacitado
- Materiales e implementos de limpieza adecuados y caracterizados

PMVL

- ▶ Validación propiamente dicha y límites para la validación:
 - ☑ Criterios de toxicidad
 - ☑ Criterio de solubilidad
 - ☑ Criterio de potencia
 - ☑ Criterio de liberación de polvo
 - ☑ Criterio cantidad de puntos críticos de control
 - ☑ Cálculo de peor caso

PMVL

- Métodos de muestreo
- Límites:
 - ☑ Químico
 - ☑ Agentes de limpieza
 - ☑ Microbiológicos
- Criterio de control de cambios y revalidación

Protocolo de Validación de Limpieza

41

► Contenido

- ✓ Objetivo
- ✓ Alcance
- ✓ Justificación del principio activo seleccionado
- ✓ Responsabilidades
- ✓ Proceso de Validación
- ✓ Desafíos a ejecutar durante la validación
- ✓ Re-evaluaciones periódicas
- ✓ Re-validación

► Se debe especificar

- ☑ Descripción de los equipos: Partes principales, dimensiones, ubicación.
- ☑ Diagrama del Proceso de Manufactura
- ☑ Listado de Procedimientos de limpieza de los equipos
- ☑ Agentes de limpieza utilizados
- ☑ Criterios de aceptación: Cálculo de los Límites
- ☑ Método de muestreo (Hisopos a ser utilizados o solvente para el agua de enjuague).
- ☑ Técnica de muestreo.
- ☑ Preparación de la muestra.
- ☑ Diagramas de los puntos hisopados.
- ☑ Técnicas de análisis.

Informe de Validación de limpieza

43

- Objetivo
- Campo de aplicación
- Abreviaturas
- Referencias
- Procedimiento
- Resultados:
 - ☑ Registro de responsabilidades
 - ☑ Disponibilidad y adecuación de procedimientos

- ☑ Capacitación del personal
- ☑ Detalle de los productos y sus características
- ☑ Puntos críticos y áreas compartidas
- ☑ Cálculos de límites de agentes de limpieza /
desinfectante / microbiológico
- ☑ Cálculos de recuperación
- ☑ Métodos analíticos
- ☑ Ejecución
- ☑ Re-validación

- No conformidades
- Observaciones
- Conclusiones

Estrategias de Validación

- ☑ Selección del proceso a validar
- ☑ Selección del método de muestreo
 - Hisopado
 - Agua de enjuague
- ☑ Determinación de criterios de aceptación o límites de limpieza .
 - Principio activo
 - Agente de limpieza
 - Microbiológico
- ☑ Selección del método de análisis de residuos.

Selección del proceso de limpieza a validar

- Se valida específicamente la limpieza para cada producto.
 - ☑ Implica llevar a cabo la validación determinando residuos luego de la limpieza de 3 lotes para cada producto envasado.
- Se agrupan los productos en categorías de riesgo y se encara la validación prioritariamente para aquellos productos que se encuadren en la categoría de riesgo alto.
 - ☑ Solubilidad
 - ☑ Toxicidad
 - ☑ Dificultad de detección
 - ☑ Alta potencia
 - ☑ Dificultad de limpieza

Factores de selección residuo “peor caso”

49

FACTOR	INDICADOR	PEOR CASO	DATO
Solubilidad	Solubilidad en agente de limpieza	Mas insoluble	Experimental
Actividad terapéutica	Dosis mínima terapéutica	Menor dosis	Prescripción
Toxicidad	PDE	Menor PDE	Safety Data Sheet
Características del producto	Forma farmacéutica, presencia de colorantes, grasas, aromas....	Mas difícil de limpiar	Know how

Análisis de Riesgos: “peor” residuo

50

PARAMETRO	NIVEL DE RIESGO					
	1	2	3	4	5	6
Dificultad de limpieza (estudio de laboratorio o subjetivo)	Muy fácil con agua	Fácil de retirar líquido con	Moderadamente fácil de retirar, producto viscoso	Moderadamente difícil de retirar, pegajoso con productos insolubles	Difícil de retirar, producto oleoso o excipiente	Muy difícil de retirar: proteínas desnaturalizadas, colorantes, TiO ₂
Toxicidad (PDE, LD50 oral rata)	≥2500 mg/kg	>1 mg/día ≥2500 y ≤1250 mg/kg	1mg-100µg/día ≥1250 y ≤500 mg/kg	10-100µg/día >500 y ≤250 mg/kg	1-10µg/día >250 y ≤25 mg/kg	<1µg/día ≥25 mg/kg
Solubilidad (g/100 mL de agua)	Muy soluble 100%	Bastante soluble 99,9%	Soluble 99%	Poco soluble >10% y <90%	Muy poco soluble <10%	Prácticamente insoluble <0,01%
Actividad terapéutica (Dosis)	Excipiente	<1 mg	1-10 mg	>10-100 mg	>100-500 mg	>500 mg

Ejemplo de selección de “peor caso”

► Definición de Parámetros.

Por ejemplo:

- Toxicidad (PDE)
- Solubilidad
- Potencia
- Generación de polvo
- Cantidad de puntos críticos de control en el proceso

Ejemplo de selección de “peor caso”

➤ Definición de Peor Caso

- Se selecciona como producto pero caso, aquel que tenga mayor puntaje resultante de multiplicar la totalidad de los puntajes de los criterios seleccionados

Validación múltiple

Casos en que sea necesario más de un “peor caso”

- No todos los productos comparten las mismas partes del equipo
- Productos incomparables

Selección del método de muestreo

- ☑ La elección de un método particular de muestreo para un residuo depende de la configuración del equipo y de la superficie muestreada.
 - Las superficies de fácil acceso pueden muestrearse mediante hisopado (25cm² o 100cm²).
 - Las de difícil acceso puede muestrearse mediante agua de enjuague.
 - Se debería usar una combinación de métodos de muestreo.

Agrupación de productos: ejemplo

- Si un determinado producto es el más difícil de limpiar, entonces validamos con este producto tomando como límite el más estricto del grupo.

¿Qué residuos (trazadores) buscamos?

- Principios Activos
- Productos de Degradación de API
- Excipientes (pomadas o cremas)
- Agentes de Limpieza
- Contaminación microbiana
- Endotoxinas (productos parenterales)

- Hay que evaluar si el P.A. del residuo no reacciona con el agente de limpieza, generando un producto de degradación mas tóxico.
- Si se usan dos agentes de limpieza o sanitizante, se debe validar para los dos y no para el mas tóxico. Se selecciona aquel agente de limpieza que permita limpiar a Temperatura ambiente.

Métodos de Muestreo

La aproximación recomendada es utilizar una combinación de hisopado y enjuague



49

ICH Q7, 12.73: Sampling should include swabbing, rinsing, or alternative methods (e.g., direct extraction), as appropriate, to detect both insoluble and soluble residues.

Selección del método de muestreo

59

Hisopado.

Ventajas

- Reproducibilidad
- Disuelve y físicamente remueve la muestra
- Útil en muchos tipos de superficie
- Aplicable a activos, detergentes y microorganismos
- La distribución de la contaminación residual en el equipo se observa en los resultados analíticos
- Los residuos insolubles o secos se pueden arrastrar físicamente

Selección del método de muestreo

Hisopado.

☑ Desventajas

- Uso limitado en áreas de difícil acceso
- Entrenamiento y habilidad del operador
- Interferencias procedentes de los materiales de muestreo
- Requiere de cálculo de áreas del equipamiento
- El hisopo debe liberar el analito y el solvente y no interferir en el ensayo
- La evaporación de disolventes durante el muestreo puede afectar los resultados

Selección del método de muestreo

Agua de enjuague

Ventajas

- Permite el muestreo de grandes áreas.
- No depende del operador
- Fácil de muestrear

Desventajas

- No permite detectar el punto de contaminación
- El volumen utilizado es crítico
- No todas las sustancias son solubles

SE PASA EL AGUA DE ENJUAGUE POR LA MANGUERA. EL AGUA RESULTANTE SE FILTRA POR UN FILTRO ESTERILIZANTE Y SE INCUBA EL FILTRO.

Selección del método de muestreo

- ☑ La empresa deberá desafiar el método analítico en combinación con el método de muestreo para demostrar que los contaminantes pueden ser recobrados de la superficie del equipo y a qué concentración

Recuperación del analito

- ☑ Los estudios de recuperación deben ser realizados para evaluar la aplicabilidad del método analítico y el procedimiento de muestreo para recuperar residuos de las superficies que tienen contacto con el producto.
- ☑ Estos estudios se usan para verificar que la concentración de residuos puede ser recuperada de las superficies del equipo con un muestreo y un método analítico dados.

Recuperación del analito

65

- ☑ Los estudios son realizados antes de que los ejercicios de validación de limpieza sean ejecutados.
- ☑ El porcentaje de recuperación será utilizado como un factor de corrección para los resultados de los ensayos.
- ☑ Todos los estudios de recuperación deben ser realizados en conformidad con procedimiento operativo escrito o un protocolo.

Recuperación del analito: Hisopado

✓ Ejemplo:

- Blanco: Hisopo sin uso en solvente
- Muestra:
 - ➔ Plantilla de acero 25 cm² – sembrar 100 uL de solución de principio activo en metanol, etanol u otro solvente
 - ➔ La concentración de la solución sembrada debe ser tal que la cantidad de analito en la placa coincida con el límite de limpieza (100%).
- Dejar secar.

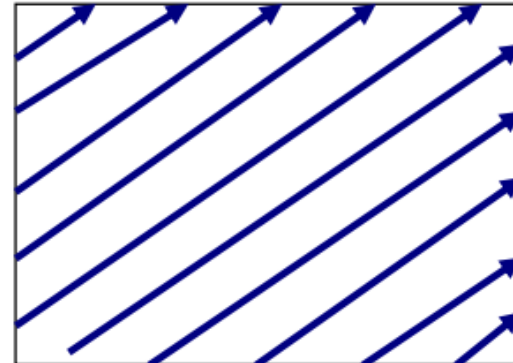
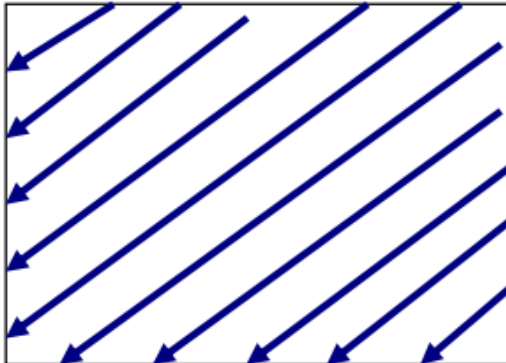
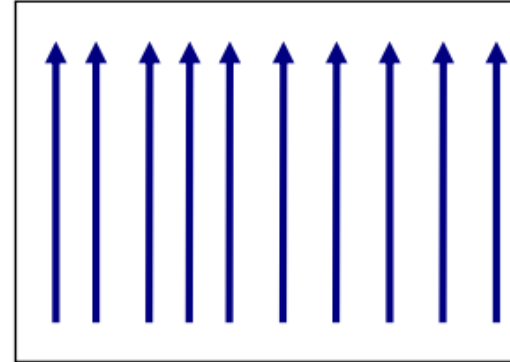
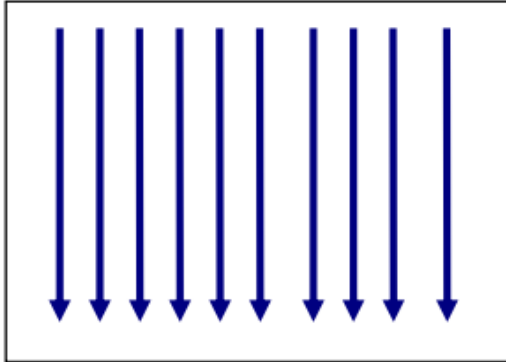
Recuperación del analito: Hisopado

- ☑ La manera en que se realiza la toma de muestra de una superficie es crítica.
- ☑ Debe asegurarse que sea exacta y reproducible en la recolección de los residuos.
- ☑ Para mejores resultados el Hisopo debe ser humedecido, pero no saturado.

Recuperación del analito: Hisopado

- ☑ Se realiza el hisopado en 3 direcciones
 - Horizontal
 - Vertical
 - Diagonal

Recuperación del analito: Hisopado



Recuperación del analito: Hisopado

- ☑ Se sumerge el hisopo en la solución (tubo de ensayo o frasco).
- ☑ Se extrae el analito del hisopo.
 - Ultrasonido
- ☑ Cálculo del % de recuperación =
$$\left(\frac{\text{Cantidad detectada}}{\text{Cantidad total}} \right) \times 100$$
- ☑ Porcentaje de recuperación aceptable.
 - Mayor al 70% (sin corrección)

Recuperación del analito: Agua de enjuague

- ☑ Mismas consideraciones que para el método de hisopado
- ☑ La extracción se realiza enjuagando la superficie con un volumen conocido de solvente.
- ☑ Porcentaje de recuperación aceptado mayor al 50%.

Recuperación del analito

- ☑ Por triplicado.
- ☑ En las superficie a ser muestreada.
- ☑ En 3 niveles
 - 50, 100 y 150 % del Límite de limpieza.

Muestreo

- ☑ Solvente a utilizarse
 - Agua de enjuague
 - Hisopado
 - ➔ alcohol
 - ➔ fase móvil
 - ➔ otro solvente
- ☑ Las muestras deben ser tomadas antes del ensamble del equipo.
- ☑ El área de muestreo puede ser aumentada conforme sea necesario para ayudar a alcanzar el límite de cuantificación del método analítico
- ☑ Superficie de muestreo
 - Hisopado (25-100) cm²
 - Agua de enjuague: todo el equipo

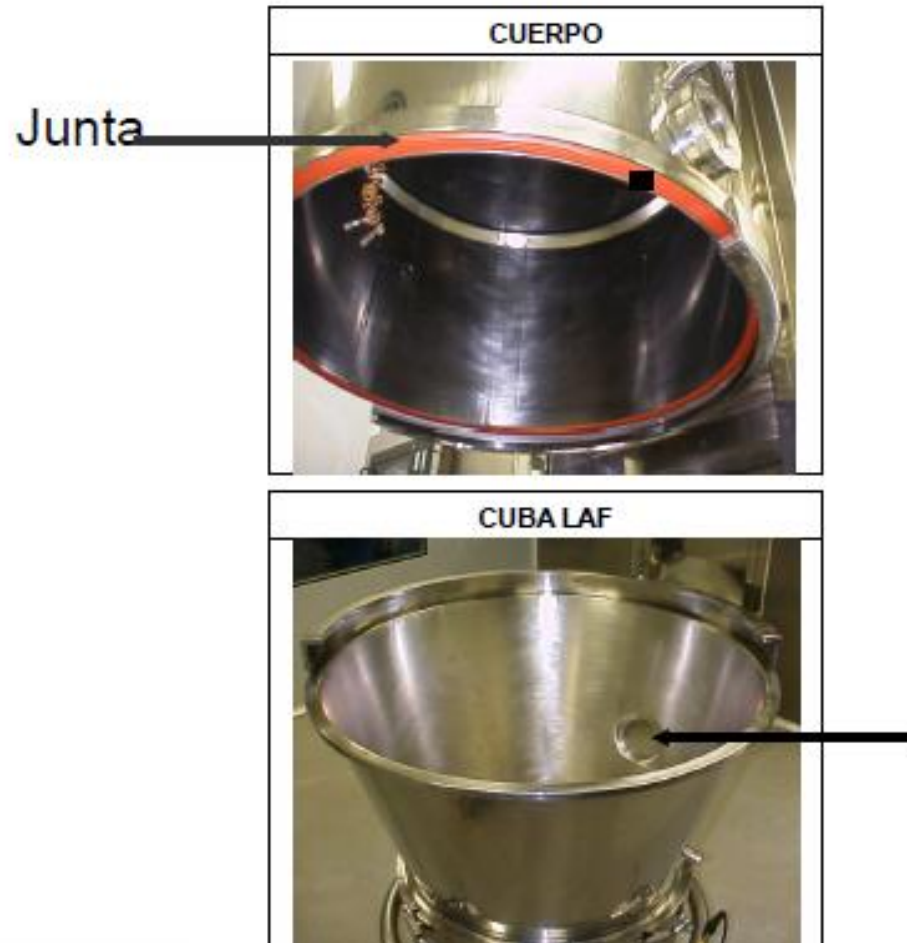
Muestreo

- ✓ Debe utilizarse guantes y máscara, para reducir el riesgo de contaminación.
- ✓ Se recomienda el análisis dentro de las 24 horas.
- ✓ El tiempo de almacenamiento después de tomar las muestras debe ser validado.
- ✓ Las muestras o pruebas microbiológicas deben ser tomadas antes de los muestreos químicos, para evitar la posibilidad de contaminación.
- ✓ Antes de iniciar los muestreos, debe realizarse una inspección visual que el equipo esta limpio y seco.

Muestreo: Selección de puntos de muestreo

- 4 o 5 puntos por equipo
- Se considera como un punto crítico de difícil limpieza
 - ➔ dificultad del acceso para ser limpiado.
 - ➔ naturaleza de diseño
 - Juntas, válvulas, conexiones o uniones, codos
 - Soldaduras
 - Desagües
 - Donde se estanca el agua.
 - Dosificadores
 - Agujas

Puntos Críticos



- Tener en cuenta diferentes materiales de la superficie. Se requiere certificado de calidad de todas las superficies que toman contacto con el producto para autoridades regulatorias extranjeras.
- Para muestreo por hisopado normalmente para obtener resultados reproducibles se utilizan 2 hisopos (húmedo y seco).

CÁLCULO DE LIMITES

Determinación de criterios de aceptación o límites de limpieza

- Principio activo
- Agente de limpieza
- Microbiológico

Determinación de criterios de aceptación o límites de limpieza

- Equipo dedicado.
 - ➔ Utilizado para un único producto.
 - ➔ Utilizado para un mismo producto de diferentes concentraciones
- Equipo para fabricación de diferentes formas farmacéuticas con diferentes principios activos.

Determinación de criterios de aceptación o límites de limpieza

Equipo dedicado.

- Visiblemente limpio.
- Análisis de detergente
- Carga microbiológica
- Análisis de el peor caso tiene aplicación cuando se trabaje con productos del mismo principio activo, pero con 2 concentraciones diferentes.

Criterios que se pueden emplear para calcular los límites de aceptación permitidos de residuos

- Criterios toxicológicos
- Criterios organolépticos
- Criterio de Dosis máxima
- Criterio de Fracción de Dosis terapéutica

- Ningún residuo de la fabricación del producto anterior debe ser detectable por los sentidos tras la limpieza
- Subjetivo
 - ☑ No visible (límite: 4-100 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$)
 - ☑ No detectable por olor (esencias)
 - ☑ No detectable por el tacto (grasas)

Criterios de Dosis Máximas

- 10 ppm del producto A en el producto B

Criterios de Fracción Dosis Terapéutica

- 0,1% de la dosis normal del producto A en la máxima dosis diaria del producto B
- No detectable por el método más sensible (alérgenos o API con potencia muy alta)

Criterios de Fracción Dosis Terapéutica

- Hasta ahora se empleaba para calcular el residuo aceptable del PA del producto fabricado anteriormente en el equipo.
- La cantidad de contaminante del producto fabricado anteriormente presente en la máxima dosis diaria que puede ser ingerida del producto posterior a fabricarse en el equipo, debe ser inferior a una fracción determinada de la dosis terapéutica del contaminante.
 - 1/10 a 1/100 Vía tópica
 - 1/100 a 1/1000 Orales
 - 1/1000 a 1/10000 Inyectables
 - 1/1000 a 1/10000 Oftálmicos
 - 1/10000 a 1/100000 I+D

Criterio Toxicológico

Exposición Diaria

Permitida (PDE)



Guideline on setting health based exposure limits for use in risk identification in the manufacture of different medicinal products in shared facilities

20 November 2014 Coming into effect 01 June 2015

PDE: PERMITTED DAILY EXPOSURE

Dosis específica de una sustancia para la cual no es de esperar que cause ningún efecto adverso si un individuo está expuesto diariamente, durante toda la vida. **Implica toxicidad a largo plazo.**

Criterios toxicológicos (PDE)

$$\text{PDE} = \frac{\text{NOAEL} \times \text{Weight Adjustment}}{\text{F1} \times \text{F2} \times \text{F3} \times \text{F4} \times \text{F5}}$$

Dosis específica de una sustancia para la cual no es de esperar que cause ningún efecto adverso si un individuo está expuesto diariamente, durante toda la vida. Implica toxicidad a largo plazo

Cálculo de PDE

- Ajuste de Peso: peso de una persona adulta: 60-70 Kg.

Se utiliza 50 Kg para dar margen de seguridad adicional.

- **F1: Extrapolación entre la especie usada para calcular el NOAEL y la especie humana:**

- F1=5 de ratas a humanos
- F1=2 de perros a humanos
- F1=2,5 de conejos a humanos
- F1=3 de monos a humanos
- F1=10 de otras especies a humanos
- F1=12 de ratones a humanos



Criterio Toxicológico Exposición Diaria Permitida (PDE) (cont.)

Toxicidad subaguda: estudios hasta 1 o 2 semanas

Toxicidad subcrónica: 3 a 6 meses

Toxicidad crónica: 1 a 2 años

Se deben investigar efectos adversos a nivel de fertilidad, embrionario (teratogenicidad), carcinogenicidad.

- **F2: Variabilidad entre individuos**

Se utiliza el valor 10 (EMA, ISPE)

- **F3: Estudios realizados a corto/medio/largo plazo**

- F3=1 cubren la mitad de la vida o más
- F3=1 estudios reproducción que cubren toda la organogénesis
- F3=2 6 meses en roedores o 3,5 años en otros
- F3=5 3 meses en roedores o 2,5 años en otros
- F3=10 estudios a corto plazo

Artículo: RG Sussman et al.

Regul.Toxicol.Pharmacolo.2016, 79, S57-S66.

Cálculo de PDE (cont.)

F4: Factor a aplicar en casos de toxicidad severa: carcinogénesis, neurotoxicidad, teratogeneidad

F4=1 toxicidad fetal asociada con toxicidad materna

F4=5 toxicidad fetal sin toxicidad materna

F4=5 efecto teratogénico con toxicidad materna

F4=10 efecto teratogénico sin toxicidad materna

F5: Cuando en lugar del NOAEL tenemos definido

el LOEL/LOAEL Se utiliza el valor 10. ISPE: 3

Teratogens

3 compounds with same dose but widely different teratogenic Characteristics have the same cleaning limit.

	Lowest Therapeutic Dose	1/1,000th	Lowest Reported Teratogenic dose (mg/kg)
Difenoxin HCL	1 mg	0.001 mg	No teratogenic effects at up to 61X therapeutic dose
Coumadin	1 mg	0.001 mg	4
Diethylstilbestrol	1 mg	0.001 mg	0.4
Ribavirin	600 mg	0.6 mg	0.12 to 0.14

Although Ribavirin is the most teratogenic its cleaning limit is 600X higher than the other 3!

RIESGO ASOCIADO A LA TOXICIDAD DEL PRODUCTO

Riesgo Bajo



Riesgo Alto

PDE	Riesgo toxicidad
> 1 mg/día	Muy bajo
> 0,1 mg/día ≤ 1 mg/día	Bajo
> 10 µg/día ≤ 0,1 mg/día	Moderado
> 1µg/día ≤ 10µg/día	Alto
≤ 1µg/día	Muy alto

CRITERIO GLOBAL

► CRITERIO ORGANOLEPTICO (DE ENTRADA)

► El mínimo requerimiento para un método de limpieza es que no se observen restos de residuos en el equipo



EL MAS RESTRICTIVO DE:

CRITERIO TOXICOLOGICO

ó

CRITERIO DE DOSIS MAXIMAS

IDENTIFICACIÓN
DE PELIGROS



REVISIÓN DE
DATOS Y
EFECTO CRÍTICO



IDENTIFICAR
NOAEL



APLICAR
FACTORES
SEGURIDAD



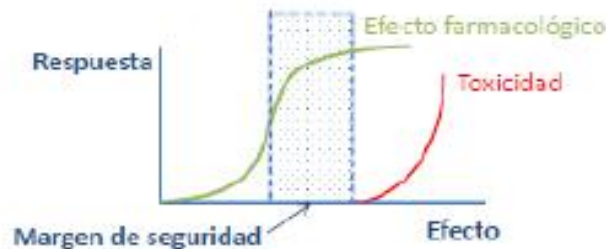
CALCULAR
PDE

- (1) Identificación de peligros, revisión de todos los datos relevantes,
- (2) Identificación de “efectos críticos”,
- (3) Determinación del **NOAEL** (*No Observed Adverse Effect Level*) para los efectos críticos,
- (4) Uso de factores de seguridad para considerar todas las incertezas.



Revisión experto

EFECTO CRITICO:
primer efecto adverso
clínicamente significativo
observado al incrementar la
dosis (ISPE 2010)



Base de Datos útiles

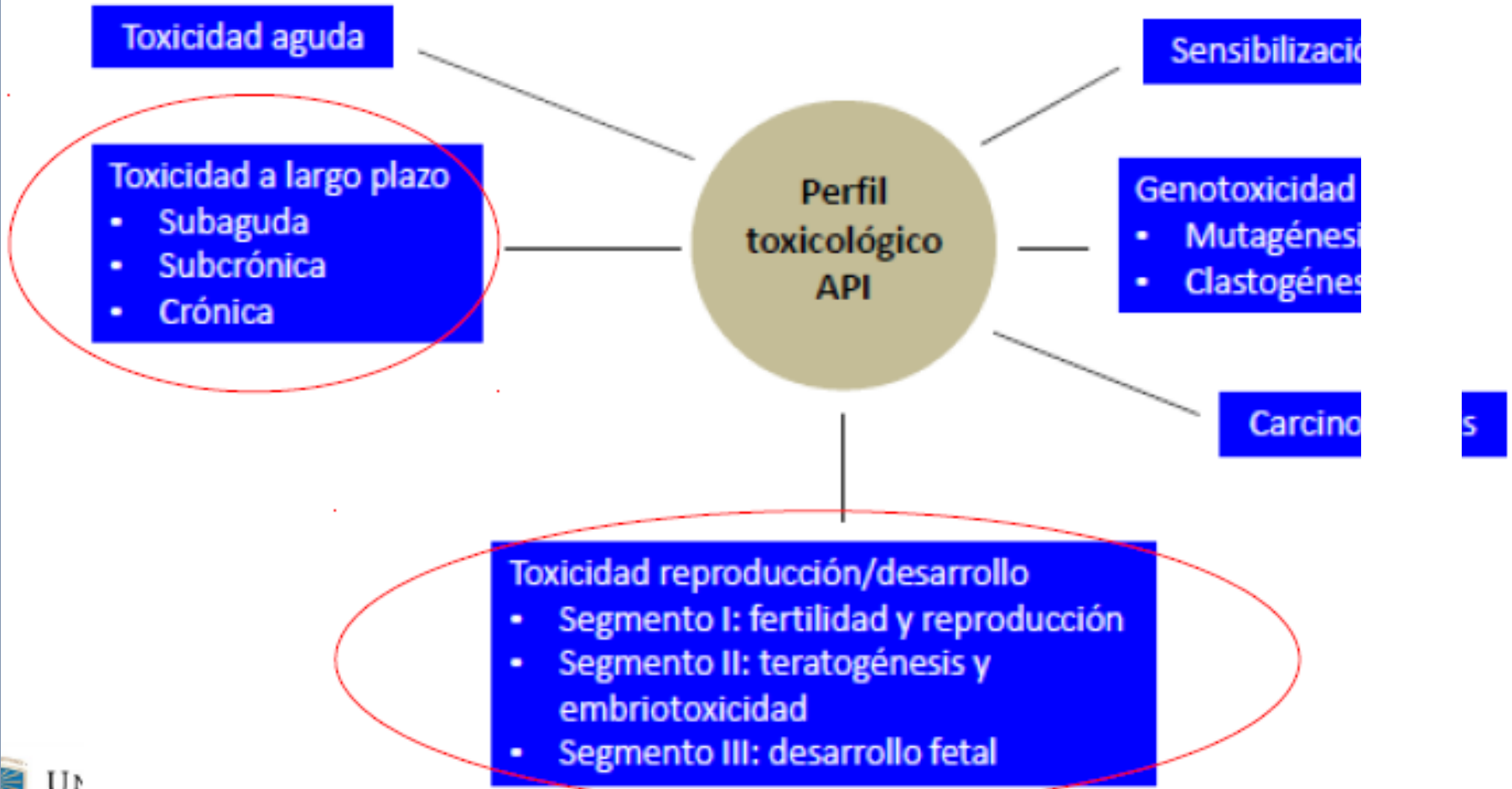
98

- TOXNET <http://toxnet.nlm.nih.gov>
- PubChem. <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>
- Network. <http://www.epa.gov/ncct/dsstox/index.html>
- US EPA Toxcast. <http://www.epa.gov/ncct/toxcast/>
- <http://www.dgouv.de/ifa/gestis/gestis-dnel-datenbank/index-2.jsp>
- PubMed (Medline). www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed
- BIOMED Central www.biomedcentral.com
- TripDatabase www.tripdatabase.com
- Dossier autoridades reguladoras: FDA, EMA, TGA
- Estudios internos (innovadores)

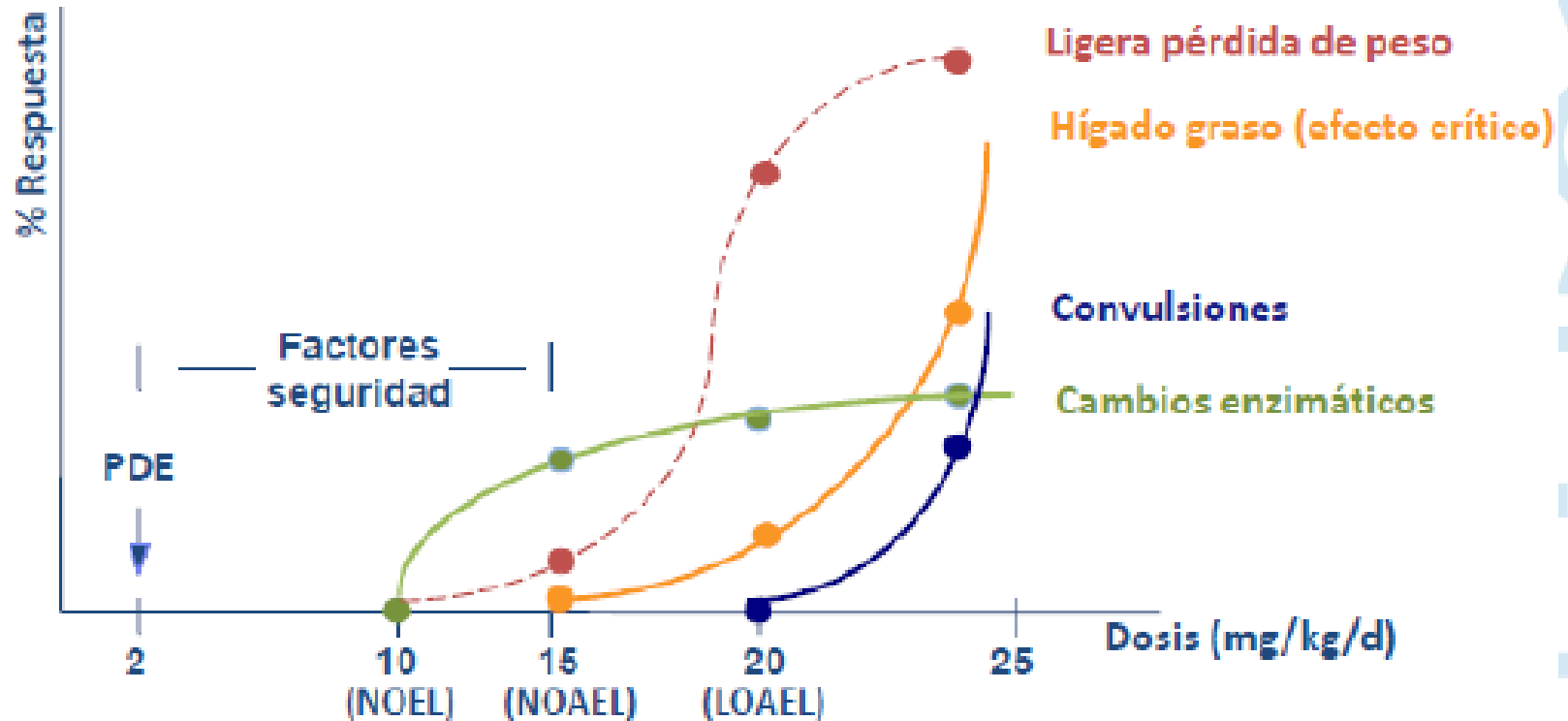
Principales datos para cálculo PDE

99

IDENTIFICACIÓN DEL EFECTO CRÍTICO



Identificar NOAEL 1º Efecto crítico



Source: NCEA, USEPA

- NOEL: No Observed Effect Level
- NOAEL: No Observed Adverse Effect Level
- LOAEL: Lowest Observed Adverse Effect Level

En los casos en que no se disponga del valor de PDE, pueden utilizarse de forma equivalente los siguientes valores:

ADE: Allowable Daily Exposure *

- Se estableció este parámetro como una métrica apropiada para manejar el riesgo durante la manufactura en la exposición a los trabajadores y en la seguridad del paciente.
- Se basa en el concepto de que la toxicidad de un producto es dosis dependiente, por lo que altas dosis de un componente puede generar efectos adversos extremos, mientras que bajas dosis pueden ser menos dañinas.

* Calculado según se describe en la Guía ISPE:

ISPE Baseline® Guide, the Risk-Based Manufacture of Pharmaceutical Products (Risk-MaPP) - A Guide to Managing Risks Associated with Cross Contamination, 8th September 2010.

Límite de Residuos Aceptables

- ▶ MACO: maximum allowable carry over (cantidad permitida máxima de residuo en el próximo lote)

$$MACOSTV = \left(\frac{PDE_A}{DD_{\max B}} \right) \times TL_B$$

Límite de Residuos Aceptables

DDmaxB = Dosis máxima de producto B

TLB = Tamaño del lote B

Si los productos no disponen de PDE por su baja toxicidad, entonces calcular MACO considerando: criterios de fracción de dosis terapéutica y 10ppm

Límite de Residuos Aceptables

- ▶ MACO: maximum allowable carry over (cantidad permitida máxima de residuo en el próximo lote)

Método fracción dosis terapéutica

$$MACO = \left(\frac{DD_{\min A} / 1000}{DD_{\max B}} \right) \times TL_B$$

Límite de Residuos Aceptables

$DD_{\min A}$ = Dosis diaria mínima de A (en mg)

$DD_{\max B}$ = Dosis máxima de producto B (en unidades de dosis)

TL_B = Tamaño del lote B (en unidades de dosis)

CALCULO DE LIMITES USANDO CRITERIOS DE DL50

Cuando no hay estudios de toxicidad a largo plazo

Se toma DL50 para un modelo animal (rata normalmente) y la vía de administración que se trate

Máximo residuo permitido / área hisopo: $NOEL \times \frac{TLB}{SCC} \times Am$

106

NOEL = $LD_{50} \times$ Factor empírico (*unidad de masa/kg of peso corporal*)

Donde: LD_{50} = Dosis letal para el 50% de la población de animales en estudio (mg/kg/día); para detergente corresponde al del componente más tóxico.

Factor empírico = derivado de un modelo animal desarrollado por Layton, et. al.: 0.001, usado por expertos del panel de WHO (10^{-3})

Consideraciones a tener en cuenta para el cálculo de límites

- Evaluar todos los productos fabricados que compartan la totalidad o parte del tren de fabricación (Producto B).
- Superficie de muestreo y áreas compartidas de equipos.
 - ☑ En agua de enjuague: totalidad del equipo
 - ☑ En hisopado 25-100 cm²
- Factor de recuperación del método de muestreo.

Límite Microbiológico

Aspectos a considerar:

- Analizar los riesgos de contaminación
- Considerar el tiempo de almacenamiento y las condiciones del equipo.
- El equipo debe estar seco.
- Esterilización y contaminación por pirógenos.
- La validez de la limpieza del equipo esta dada por los análisis microbiológicos.

Límite Microbiológico

Aspectos a considerar.

- Especificación microbiológica del producto terminado.
- Especificaciones microbiológicas según clasificación del área.

ELECCION DEL TRAZADOR

¿Qué debe cumplir el trazador?

- El más difícil de limpiar
- Con mas proporción de P.A.
- Método analítico sensible
- Sin poder antimicrobiano

Factores de selección del trazador

FACTOR	INDICADOR	PEOR CASO	DATO
Solubilidad	Solubilidad en agente de limpieza	Más insoluble	Experimental
Actividad terapéutica	Dosis mínima terapéutica	Menor dosis	Prescripción
Toxicidad	PDE	Menor PDE	Safety Data Sheet
Características del producto	Forma farmacéutica Presencia colorantes, grasas, aromas...	Más difícil de limpiar	Knowhow

METODOS ANALITICOS

TIPOS

- ORGANOLEPTICOS
 - Si no da correcto no es necesario continuar
- METODOS ESPECIFICOS
 - Proporcionan el valor exacto del analito
- METODOS INESPECIFICOS
 - Proporcionan un valor inferior a.....
- METODOS MICROBIOLOGICOS
 - Microorganismos
 - Endotoxinas

Requisitos

- Validados.
 - Métodos documentados
 - Instrumentos y equipos calificados y calibrados
 - Patrones de referencia confiables
 - Personal calificado
- Capaces de cuantificar trazas del orden del límite de limpieza.
 - LOQ del método menor al Límite calculado

METODOS ANALITICOS

CARACTERISTICAS DE LOS METODOS FISICOQUIMICOS

Método analítico	Especificidad	Sensibilidad	Identificación	Facilidad de implementación	Disponibilidad resultados	Costes
Características organolépticas	+	+	No	+++	+++	+
Conductividad	+	++	No	+++	+++	++
pH	+	++	Sí	+++	+++	++
UV-Visible	++	+++	Sí	+++	++	++
TLC	+++	++	Sí	++	++	++
HPLC	+++	+++	Sí	+	++	+++
GC	+++	+++	Sí	+	++	+++
TOC	No	+++	Sí	++	++	+++

114

+ bajo / lento / barato

++ medio

+++ alto / rápido / caro

PROBLEMAS QUE SE PRESENTAN

- **La muestra tiene una concentración por debajo del límite de cuantificación**

- ¿Cómo aumentar la concentración de la muestra?
 - ☑ Agua de enjuague
 - Disminuyendo el volumen de agua de muestreo

 - ☑ Hisopado
 - Disminuyendo volumen de extracción del hisopo
 - $110 \mu\text{g}/20 \text{ mL} = 5,5 \mu\text{g}/\text{mL}$ pero en 10 mL es $11 \mu\text{g}/\text{mL}$
 - Incrementando el área muestreada
 - Si el límite es $11 \mu\text{g}/\text{mL}$ para 25 cm^2 , extraídos con 10 mL, para 100 cm^2 será de $22 \mu\text{g}/\text{mL}$

TOC en Validaciones de Limpieza

- Medida de residuos de PA
- Medida de residuos de detergentes
- Peor caso posible de análisis: cualquier residuo se asume que será el contaminante
- Se asume que todo el TOC es principio activo o detergente



116

Ejemplo:

Límite residuo de detergente: 5 ppm

Si el resultado del análisis de TOC es < 5 ppm, entonces el sistema está limpio.

TOC: cálculo del factor de recuperación

Carbónico orgánico total (TOC): Cálculos

$$FR = (M_{\text{prob.}} - C_{\text{neg.}}) / (C_{\text{posit.}} - \text{Blanco})$$

$M_{\text{prob.}}$: Lectura problema (concentración conocida)

$C_{\text{neg.}}$: Lectura del control negativo (hisopo más agua purificada)

$C_{\text{posit.}}$: Lectura del control positivo (patrón de igual concentración teórica que el problema)

Blanco: Lectura del control de agua purificada

Límite de aceptación TOC

o PDE

$$\text{PPM A} = \frac{F \times DT \text{ diaria mínima contaminante A } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right)}{DT \text{ diaria máxima producto siguiente B } \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{día}} \right)}$$

En el supuesto que:

- Dosis mínima A sea 25 mg
- PDE: 20 $\mu\text{g}/\text{día}$
- Dosis máxima de B: 1 g

Calcular las ppm límites para método de TOC, teniendo en cuenta que el compuesto A tiene un 57,34 % de C en su composición



Esta foto de Autor desconocido está bajo licencia [CC BY-SA](#)

