



UNIVERSIDAD DE CHILE  
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACÉUTICAS  
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS Y TECNOLOGÍA FARMACÉUTICAS  
LABORATORIOS VETERQUÍMICA S.A.

# VALIDACIÓN DE LIMPIEZA DE UN EQUIPO DE FABRICACIÓN DE PREMEZCLAS FARMACÉUTICAS DE USO VETERINARIO

**Unidad de Práctica Prolongada para optar al Título de Químico Farmacéutico**

VALERIA ALEJANDRA HUERTA PUCHI

QF.Edda Costa C. MSc.  
Supervisor de Práctica  
Facultad de Ciencias Químicas y Farmacéuticas  
Universidad de Chile

QF.Paula Gajardo Morales  
Monitor de Práctica  
Directora Técnica  
Laboratorio Veterquímica S.A

SANTIAGO DE CHILE  
2017

## **AGRADECIMIENTOS**

A mi compañero de viaje durante estos largos 6 años universitarios, sin él nada de esto sería posible. Gracias Miguel por tu mar de sabiduría, por esas largas pláticas, un poco extenuantes de vez en cuando, pero siempre llenas de optimismo y contención. Gracias por ser una persona que nunca se conforma con lo que sabe y siempre busca algo más con que llenar su conocimiento. Búsquedas que muchas veces solo hacías para ayudarme a encontrar respuestas a mis innumerables dudas e inquietudes surgidas en esta práctica. Y por supuesto, gracias por darme la mayor alegría que he tenido en la vida, una pequeña semillita llamada Helena.

Semillita, flor del amor, que viniste a llenar cada momento de risas, caricias y llantos. No fue fácil nuestro camino juntas, cuando eramos una sola, pero el tiempo, los abrazos y besos han hecho que quiera pasar cada segundo a tu lado, admirando tu gracia e inteligencia. Gracias por darme un impulso más para seguir adelante, todo este trabajo y los que vendrán serán para ti, para que te sientas orgullosa de tus padres. Gracias mi vida por existir y elegirme como tu mamá.

A mis padres por darme la oportunidad de crecer como persona y también profesionalmente, por apoyarme en cada etapa de mi vida. Y más aún, gracias por ser un pilar fundamental en la vida de mi pequiñita, por ser un tata y una abu presente todos los días, con cariños y también malcriandola.

A mi querida Mariangel, gracias por tu sinceridad y apoyo durante todos estos años, te ganaste un espacio gigante en mi corazón. Al Panchito, eres un gran compañero, gracias por permanecer a mi lado desde el primer año, nunca cambies.

A todas aquellas personas que permitieron que mi práctica tuviera buen rumbo y muy gratos momentos. Gracias a todo el equipo Veterquímica, que me aceptaron y apoyaron como una más del plantel. A Paula y Luis por darme la oportunidad

de pertenecer a esta gran familia y por supuesto a todo el equipo de control de calidad que se ganaron un espacio en mi corazón.

## TABLA DE CONTENIDOS

<b>AGRADECIMIENTOS</b>	ii
<b>TABLA DE CONTENIDOS</b>	iv
<b>ÍNDICE DE TABLAS</b>	vii
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	ix
<b>1.RESUMEN</b>	1
<b>2.INTRODUCCIÓN</b>	3
<b>3.RESEÑA DEL LABORATORIO</b>	5
<b>4.OBJETIVOS</b>	6
<b>5. DESARROLLO</b>	7
5.1 Marco teórico	7
5.1.1 Procedimientos Operativos Estándar (POEs) de limpieza y sanitización	7
5.1.2 Protocolo de validación de limpieza y sanitización	8
5.1.3 Informe de validación de limpieza y sanitización	9
5.2 Antecedentes preliminares de la validación de limpieza	10
5.2.1 Análisis de riesgo: determinación “peor caso”	10
5.2.2 Determinación de métodos de muestreo	11
5.2.3 Validación de la metodología analítica para el principio activo del producto “peor caso”	12
5.2.4 Determinación del porcentaje de recuperación para el “peor caso”	20
5.2.5 Límites de aceptación para el contaminante “peor caso”	24
5.2.6 Determinación de los puntos críticos de limpieza del equipo	27
5.2.7 Determinación residuos de detergente	29
5.2.8 Contaminación microbiológica	30
5.3 Validación de limpieza y sanitización de equipos	30
5.3.1 Validación de la limpieza	30
5.3.1.1 Validación de la limpieza: Inspección visual	31
5.3.1.2 Validación de la limpieza: muestreo por hisopado	31
5.3.1.3 Validación de la limpieza: muestreo por enjuague con	32

solvente de extracción	
5.3.1.4 Validación de la limpieza: muestreo del agua de enjuague	33
5.3.1.5 Validación de la limpieza: Validación de la sanitización	33
<b>6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>35</b>
6.1 Validación de metodología analítica	35
6.1.2 Determinación especificidad o selectividad	35
6.1.3 Determinación de la linealidad	35
6.1.3.1 Linealidad del sistema	35
6.1.3.2 Linealidad del método	36
6.1.4 Determinación exactitud	36
6.1.4.1 Veracidad	36
6.1.4.2 Precisión	37
6.1.4.3 Determinación incertidumbre	38
6.1.4.4 Determinación de límites de Detección y Cuantificación	38
6.1.4.5 Determinación robustez	38
6.2 Determinación del porcentaje de recuperación	40
6.2.1 Determinación del porcentaje de recuperación de concentración 10 µg/mL	40
6.2.2 Determinación del porcentaje de recuperación de concentración 100 y 150 µg/mL	41
6.3 Validación de limpieza línea central de producción	43
6.3.1 Determinación del “peor caso”	44
6.3.2 Determinación de los puntos críticos de limpieza	45
6.3.2.1 Campana de incorporación de principio activo y mezclador Central	45
6.3.2.2 Cernidor - Silo	47
6.3.2.3 Dosificadora	48
6.3.3 Determinación de los límites de limpieza	49
6.3.3.1 Límites para muestreo por hisopado y solvente de extracción	49
6.3.4 Determinación residuos de detergentes	51
6.3.5 Pruebas para la validación de la limpieza	52

6.3.5.1 Validación de la limpieza: Inspección visual	52
6.3.5.2 Validación de la limpieza: Muestreo por hisopado	53
6.3.5.3 Validación de la limpieza: Muestreo por solvente de extracción	56
6.3.5.4 Validación de la limpieza: Muestreo del agua de enjuague	57
6.3.5.5 Validación de la sanitización	59
<b>7. CONCLUSIONES</b>	<b>62</b>
<b>8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>63</b>
<b>9. ANEXOS CD Room</b>	<b>67</b>

## INDICE DE TABLAS

Tabla N°1: Parámetros y su ponderación para elección del "peor caso"	10
Tabla N°2: Métodos de muestreo de superficies	12
Tabla N°3: Tabla AOAC para el porcentaje de recuperación	17
Tabla N°4: Criterio de aceptación porcentaje de recuperación	23
Tabla N°5: Factor de seguridad según la vía de administración	25
Tabla N°6: Especificaciones técnicas VQ®-30	29
Tabla N°7: Límites de aceptación de contaminación microbiológica área de fabricación clase D	30
Tabla N° 8: Detalle del tipo de ensayo de selectividad y su resultado	35
Tabla N°9: Resultados para $\mu$ relativos de repetibilidad, recuperación, $\mu$ combinado y $\mu$ expandida	38
Tabla N°10: Resultado para límite de detección y límite de cuantificación	38
Tabla N°11: Resultados robustez	39
Tabla N°12: Resultado porcentaje de recuperación para los tres métodos	40
Tabla N° 13: Resultados porcentaje de recuperación a concentraciones de 100 y 150 $\mu\text{g}/\text{mL}$	41
Tabla N°14: Resumen porcentaje de recuperación obtenido método hisopado B	41
Tabla N°15: Ponderación de cada productos y puntaje total	43
Tabla N°16: Resultados cálculo del límite en el producto siguiente (L1)	49
Tabla N°17: Resultados de los límites L2 y L3 para muestreo por hisopado y solvente de extracción	50
Tabla N°18 : Resultados inspección visual de los tres ciclos de limpieza	52

Tabla N°19: Resultados primer muestreo por hisopado	53
Tabla N°20: Resultados segundo muestreo por hisopado	54
Tabla N°21: Resultados tercer muestreo por hisopado	55
Tabla N°22: Resultado muestreo por solvente de extracción, segundo y tercer muestreo	56
Tabla N°23: Resultados muestreo del agua de enjuague del primer muestreo	57
Tabla N°24: Resultados muestreo del agua de enjuague del segundo muestreo	57
Tabla N°25: Resultados muestreo del agua de enjuague del tercer muestreo	58
Tabla N°26: Resultado análisis microbiológico, mesófilos, hongos y levaduras	59
Tabla N°27: Resultados control microbiológico, <i>E.coli</i> , <i>Salmonella sp.</i> , <i>S. Aureus</i>	60



## INDICE DE FIGURAS

Figura N°1: Muestreo de superficies	22
Figura N°2: Distribución del equipo en la planta de producción	28
Figura N°3: Campana de incorporación p.a y mezclador central	45
Figura N°4: Campana de incorporación p.a	46
Figura N°5: Mezclador central	46
Figura N°6: Cernidor – Silo	47
Figura N°7: Conexión cernidor	47
Figura N°8: Silo	48
Figura N°9: Dosificadora	48

## 1. RESUMEN

La Unidad de Práctica Prolongada se realizó en conjunto con el Departamento de Aseguramiento de la Calidad y el Departamento de Investigación y Desarrollo (I+D) de Laboratorios Veterquímica, con el objeto de realizar la validación de los procedimientos de limpieza y sanitización del equipo de fabricación de premezclas farmacológicas de uso veterinario. La validación abarcó la línea central de la planta Farmacológicos Gran Volumen, constituida por un equipo fabricado a medida para facilitar la producción en serie. A modo de favorecer la calificación del equipo, éste fue dividido en las siguientes áreas:

- Campana de principio activos
- Mezclador central de paletas
- Cernidor-Silo
- Dofisicadora

Para lograr la validación, fue necesario la revisión de los Procedimientos Operativos Estándar de limpieza y sanitización. Una vez actualizados y aprobados, se llevó a cabo un análisis de riesgo de la línea central de producción, para determinar el producto trazador o “peor caso”, siendo florfenicol, Duflosan®50%, premezcla para el alimento.

Conocido el peor caso, fue necesario validar la metodología analítica para determinar florfenicol en producto terminado guiados por los requerimientos de la Agencia Europea de Medicamentos. Se determinaron los siguientes parámetros:

- Especificidad o selectividad
- Linealidad
- Exactitud
- Precisión
- Límite de Detección
- Límite de Cuantificación

- Robustez

Los resultados obtenidos para la validación del método analítico, resultaron ser específicos y sensibles para el principio activo trazador. Posteriormente se realizaron ensayos para determinar el porcentaje de recuperación del contaminante desde la superficie, usando tres concentraciones distintas y tres técnicas de hisopado. También se estudió la posible interferencia en la medición de florfenicol de la matriz del producto y del material de la tórula ocupada en el muestreo determinándose que no existe interferencia en el análisis y cuantificación.

Los siguientes pasos consistieron en desarrollar el protocolo de validación, en donde se establecieron los puntos considerados como críticos, aquellos lugares de difícil acceso o donde el contaminante se tiende a acumular. Se establecieron los criterios de conformidad para el peor caso, los límites de residuos de detergente y límites microbiológicos aceptados, junto con la metodología para obtener dichas muestras.

Para cada una de las pruebas realizadas, el resultado obtenido fue conforme a los criterios establecidos asegurando de esta forma que los residuos encontrados no conllevan a una posible contaminación cruzada, no afectando la integridad del producto siguiente a fabricar.

Todos el proceso fue documentado en el informe de validación, dando por aprobado la validación de limpieza y sanitización.

## 2. INTRODUCCIÓN

En la industria farmacéutica es de suma importancia cumplir con las normas que rigen la fabricación de los productos, con el fin de proporcionar estándares de calidad, eficacia y seguridad del producto final. En nuestro país, las entidades regulatorias comprenden al Instituto de Salud Pública (ISP) para el desarrollo de productos farmacéuticos de uso humano y el Servicio Agrícola Ganadero (SAG) para productos de uso veterinario. A nivel internacional, las Buenas Prácticas de Manufactura -BPM-, en inglés *Good Manufacturing Practices* -GMP-, son delineadas por entidades como la Organización Mundial de la Salud (OMS) y la *Food and Drug Administration* (FDA) de Estados Unidos. En Chile, la principal normativa que rige tanto la industria farmacéutica humana como veterinaria, está dictada por el Informe 32° del Comité de Experto en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas de la OMS<sup>1</sup>. A su vez, mediante el decreto 25, del Ministerio de Agricultura, se aprueba el reglamento de productos farmacéuticos de uso exclusivamente veterinarios.

Las normas GMP son una herramienta fundamental para la obtención de productos seguros. Para ello, cada laboratorio debe regirse por los principios básicos de garantía de calidad, los cuales comprenden:

- La calidad, seguridad y eficacia, deben ser diseñadas e incorporadas en el producto.
- La calidad no puede ser inspeccionada o probada sólo en el producto.
- Cada etapa crítica del proceso de fabricación debe estar validada. Las otras etapas deben encontrarse controladas de manera de maximizar la probabilidad de que el producto cumpla con todas las especificaciones de calidad y de diseño.

Para cumplir estos principios básicos se requiere validar los procesos, acto documentado para verificar que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema conduce realmente a los resultados esperados<sup>1</sup>.

Uno de los aspectos fundamentales es prevenir la posible contaminación y contaminación cruzada de materias primas y productos farmacéuticos. Los productos pueden ser contaminados por una variedad de sustancias tales como, productos anteriores, contaminantes asociados con microorganismos, residuos de agentes de limpieza, entre otros. Por este motivo, los procedimientos adecuados de limpieza, desempeñan un rol importante para la prevención de la contaminación y contaminación cruzada. Estos deben ser establecidos rigurosamente y sus métodos de ejecución validados, de forma tal de reducir los niveles de contaminación a niveles aceptables. Una adecuada implementación de los Procedimientos Operativos Estándar (POEs) tiene como objeto asegurar que una posible contaminación por el producto que le precede, residuos de los agentes de limpieza y contaminación microbiológica se encuentran controlados, asegurando la calidad del producto final.

El trabajo realizado en el Laboratorio Veterquímica S.A., consistió en la validación de limpieza de un equipo de fabricación de premezclas farmacéuticas de uso veterinario.

### **3. RESEÑA DEL LABORATORIO**

Laboratorios Veterquímica S.A. es una empresa emprendedora y familiar formada por Luis Arrieta Castroviejo, Químico Farmacéutico de la Universidad de Chile y su esposa Astrid Rex Olsen Bioquímica de la Universidad de Chile, en el año 1969, dedicándose exclusivamente a la salud animal.

Inicia sus actividades con la formulación y producción de suplementos vitamínicos y minerales para alimentación animal. Dentro de éstos cabe destacar las líneas de vitaminas Vetermix<sup>®</sup>, minerales Veternal<sup>®</sup> y bloques nutricionales Veterblock<sup>®</sup>.

En 1992 expande sus fronteras fundando Veterquímica Boliviana S.R.L en Cochabamba. Desde esa fecha la empresa participa activamente en todas las actividades relacionadas al sector pecuario de Bolivia. En el año 1999, suma otro país en sus operaciones fundando Veterquímica Perú S.A.

Veterquímica cuenta con dos plantas en Santiago, una ubicada en camino a Lonquén y otra en Cerrillos. La primera se dedica a cuatro áreas: salud animal, nutrición animal, higiene y bioseguridad. A su vez, la segunda presta servicios realizando diagnóstico y estudios de patologías que afectan principalmente a la industria de producción avícola, porcina y ganadera, a cargo de un amplio equipo con las capacidades y conocimientos necesarios para llevar a cabo actividades de I+D. Otros servicios prestados por este laboratorio son necropsias, detección de microorganismos bacterianos y virales.

Por otro lado, cuenta con una planta en Puerto Montt como centro de distribución, con la autorización de Sernapesca, para la realización de análisis de rutina y Programa de Vigilancia activa siendo acreditado por el Instituto Nacional de Normalización.(INN) bajo la Norma Chilena 17025 .

## 4. OBJETIVOS

### 4.1 Objetivo General

Validar la limpieza de un equipo de fabricación de premezclas farmacéuticas de uso veterinario.

### 4.2 Objetivos Específicos

- a) Conocer el funcionamiento de la planta de producción Farmacológicos de Gran Volumen, equipos, productos, líneas de producción.
- b) Revisar bibliografía de guías de validación nacionales e internacionales y normativa vigente sobre validación de limpieza.
- c) Elaborar o actualizar los Procedimientos Operativos Estándar de limpieza y sanitización.
- d) Elaborar protocolos de validación de limpieza.
- e) Revisar equipos por área perteneciente a la planta de Farmacológicos de Gran Volumen.
- f) Definir los posibles contaminantes o residuos.
- g) Obtener metodologías analíticas para el análisis de los contaminantes o residuos.
- h) Validar la metodología analítica para florfenicol en el producto terminado, Duflosan®50% mediante cromatografía líquida de alta resolución.
- i) Llevar a cabo la validación de limpieza.
- j) Recopilación de reportes analíticos.
- k) Elaborar el informe de Validación de limpieza y sanitización.

## **5. DESARROLLO**

### **5.1 Marco teórico.**

La validación de procesos es un programa documentado que proporciona un alto grado de seguridad de que un proceso específico producirá consistentemente un producto dentro de las especificaciones determinadas.

El objetivo de la validación de la limpieza es verificar que efectivamente los Procedimientos Operativos Estándar (POE) de limpieza y sanitización remuevan residuos de productos y logren controlar la proliferación microbiana.

Una vez concluida la validación los documentos deben ser archivados en una carpeta exclusiva.

Los documentos generados y actualizados fueron los siguientes:

#### **5.1.1 Procedimientos Operativos Estándar (POEs) de limpieza y sanitización.**

Los POEs son documentos autorizados por el Departamento de Aseguramiento de Calidad, que tienen por objeto que los métodos sean reproducibles en el tiempo. En el caso de los POEs de limpieza y sanitización estos tienen por finalidad hacer el proceso reproducible, asegurando un eficaz lavado. Para ello el documento tiene que ser claro, conciso y describir en detalle todos los pasos a seguir por los operarios a cargo de la limpieza.

La planta farmacéutica de uso veterinario, contaba con sus instructivos de limpieza y sanitización, por lo cual, en conjunto con el jefe de área y al equipo de control de calidad, se hizo una revisión y actualización que incluyó la eliminación de pasos innecesarios, la incorporación de nuevos pasos y agentes de sanitización.

Una vez realizada la actualización, fueron revisados y aprobados por el Jefe de Planta y Jefe de Aseguramiento de Calidad. Una vez oficializado el documento, se dió a conocer a todo el equipo encargado de la limpieza los cambios efectuados.



Los POEs de limpieza contaban con dos tipos de limpieza<sup>2</sup>:

-Limpieza parcial o abreviada: corresponde a una limpieza simplificada, en este caso, entre lotes sucesivos de un mismo producto en un equipo no dedicado (equipos usados en la fabricación de productos con distintos principios activos).

En laboratorios Veterquímica, una limpieza abreviada corresponde a un lavado en seco, esto quiere decir, que se utiliza una carga de excipiente para remover restos del producto fabricado.

-Limpieza completa o rigurosa: es una limpieza más profunda y se aplica en los equipos no dedicados cuando se realiza un cambio del producto a fabricar o pasada una cantidad determinada de lotes fabricados.

### **5.1.2 Protocolo de validación de limpieza y sanitización.**

Es un documento que describe las actividades a ser desarrolladas en el procedimiento de una validación. Dentro del protocolo se indican que parámetros van a ser evaluados, como se realizará la toma de muestra y cuáles serán los criterios de conformidad. Los protocolos deben ser revisados por el Director Técnico y su aprobación está a cargo del Jefe de Aseguramiento de Calidad.

Los puntos básicos que deben ser considerados son los siguientes<sup>3</sup>:

- Antecedentes previos a la validación.
- Objetivos de la validación de la limpieza.
- Alcance de la validación, equipos involucrados.
- Descripción de los lotes a utilizar.
- Capacitación del personal.
- Descripción general del proceso de limpieza.
- Descripción detallada de cada paso de la validación.
- Límites establecidos y criterios de aceptación de los resultados obtenidos.

### **5.1.3 Informe de validación de la limpieza y sanitización.**

Este informe corresponde al documento que reúne y sintetiza los registros, resultados y evaluación de un programa de validación finalizado. Dentro de este informe se debe demostrar la conformidad o no conformidad de las siguientes determinaciones<sup>3</sup>:

- Validación de la limpieza: inspección visual.
- Validación de la limpieza: muestreo por hisopado.
- Validación de la limpieza: muestreo por enjuague con solvente de extracción.
- Validación de la limpieza: muestreo del agua de enjuague.
- Validación de la sanitización: hisopado.

## 5.2 Antecedentes preliminares de la validación de limpieza

### 5.2.1 Análisis de riesgo: determinación “peor caso”.

La determinación del “peor caso” es un paso crucial en la definición de los límites de contaminación y en la eficacia del procedimiento de limpieza<sup>4</sup>.

Este método es útil cuando los equipos de producción son multiproductos, esto quiero decir que en el mismo equipo se fabrican diversos productos los cuales contienen distintos principios activos. A través de este análisis de riesgo se asume que si un equipo queda limpio en las condiciones más desfavorables, también quedará limpio en las condiciones más favorables<sup>5</sup>.

El análisis de riesgo se llevó a cabo considerando una serie de parámetros y ponderaciones: tamaño y número de lotes, unidades/año, dificultad de limpieza, solubilidad, toxicidad y porcentaje del principio activo<sup>6</sup>.

En la Tabla N°1 se presentan los parámetros y su ponderación para la elección del "peor caso"

Tabla N°1: Parámetros y su ponderación para elección del "peor caso".

Parámetro	Rango	Ponderación
Tamaño de lote (Kg)	0-200	1
	201-400	2
	401-600	3
	601-800	4
	>800	5
Cantidad (Lotes/Año)	<50	1
	51-100	2
	101-150	3
	151-200	4
	>201	5
Unidades/Año	<80.000	1
	80.001-160.000	2
	160.001-240.000	3
	240.001-320.000	4
	320.001-400.000	5
Dificultad de limpieza	Muy fácil	1
	Fácil	2
	Normal	3
	Difícil	4

	Muy difícil	5
<b>Solubilidad en agua (mg/L)</b>	Muy Soluble >1.000.000	1
	Soluble 33.000-1.000.000	2
	Ligeramente Soluble 10.000-33.000	3
	Muy poco Soluble 100-10.000	4
	Prácticamente Insoluble <100	5
		<20%
<b>Porcentaje de principio activo</b>	20%-40%	2
	40%-60%	3
	60%-80%	4
	>80%	5
		Prácticamente no tóxico DL50 >15.000 mg/Kg
<b>Toxicidad DL50 (oral-ratas) mg/Kg</b>	Muy poco tóxico DL50 5.000-15.000 mg/kg	2
	Moderadamente Tóxico DL50 500-5.000 mg/Kg	3
	Muy Tóxico DL50 50-500 mg/Kg	4
	Extremadamente Tóxico DL50 <50 mg/Kg	5

El resultado del análisis de riesgo se llevó a cabo estableciendo cuáles productos son fabricados en la planta, evaluando cada uno según los parámetros y ponderaciones ya establecidas y calculando la ponderación total. Aquel producto o principio activo que logró el mayor puntaje total se consideró como el “peor caso”, siendo florfenicol (Duflosan®50%) premezcla para el alimento de animales mayores. Duflosan®50%, corresponde a un producto antibacteriano, que actúa contra enfermedades de salmónidos correspondientes a los géneros Vibrio y Aeromona. El producto es aplicado a través de las aguas de inmersión.

### **5.2.2 Determinación de métodos de muestreo.**

Los métodos de muestreo son una fase importante de la planificación de la validación de la limpieza. Debido a que los equipos están en contacto con diversos contaminantes (principio activo, detergente y microorganismos) se hace

necesario buscar métodos que logren permitir una toma de muestra adecuada para cada tipo de contaminante<sup>7</sup>.

Para la obtención de muestras de trazas del principio activo contaminante se utilizaron dos técnicas complementarias: hisopado de superficies o método directo y enjuague o método indirecto, el uso de ambas técnicas permite abarcar mayor superficie de muestreo. En la Tabla N°2 se muestran los métodos de toma de muestra para cada posible contaminante.

Tabla N°2: Métodos de muestreo de superficies.

Contaminante	Método de Muestreo
Residuos de principio activo producto anterior “Peor Caso”	Hisopado
	Enjuague con solvente extracción
Residuos de Detergente	Enjuague con agua desionizada
Microorganismos	Hisopado

### 5.2.3 Validación de la metodología analítica para el principio activo del producto “peor caso”.

Para determinar la presencia del producto trazador, se hace necesario contar con una metodología analítica validada, la cual debe ser sensible y específica para el principio activo. Tanto el límite de detección (LD) como el límite de cuantificación (LC) deben encontrarse por debajo del límite máximo permitido luego de la limpieza<sup>7</sup>.

El Departamento de Control de Calidad contaba con un procedimiento para la determinación de florfenicol tanto en materias primas como producto terminado mediante cromatografía líquida de alta resolución (HPLC), el cual se encontraba validado para distintos productos, no así para el florfenicol (Duflosan<sup>®</sup> 50%) por lo cual, se procedió a la validación de este producto terminado<sup>8</sup>.

La validación del método analítico se llevó a cabo en el Departamento de I+D perteneciente a Veterquímica S.A.. Por protocolo interno, los criterios evaluados corresponden a los descritos por la The European Agency for the Evaluation of

Medicinal Products (EMA). Los parámetros evaluados corresponden a los siguientes<sup>9</sup>:

1. Especificidad o selectividad: este parámetro corresponde al grado en que un método puede cuantificar o cualificar al analito en presencia de interferentes, estos generalmente se encuentran en la matriz de interés<sup>10</sup>.

Para el ensayo se debe demostrar la discriminación de florfenicol en presencia de los excipientes. Para ello se comparan los cromatogramas obtenidos de tres testigos reactivos, tres blancos de matriz y tres muestras del producto terminado (Duflosan<sup>®</sup> 50%, polvo oral).

El objetivo fue demostrar que la presencia de los excipientes no afecta la medición del principio activo en el producto.

- **Críterio de aceptación:** Los tiempos de retención del producto terminado no deben variar más de 0,5 minutos respecto del tiempo de retención del estándar de Florfenicol. Los cromatogramas obtenidos del o los excipientes no deben presentar peak en el tiempo de retención del Florfenicol.
2. Linealidad: Es la capacidad de un método de análisis, dentro de un determinado intervalo, de dar una respuesta o resultados instrumentales que sean proporcionales a la cantidad del analito que se habrá de determinar en la muestra de laboratorio.
    - A. **Linealidad del sistema:** para la determinación de este parámetro se preparan cinco soluciones de concentración estándar a partir de una solución *stock* de florfenicol. Cada punto se realiza por triplicado y se incluye la realización de un blanco.

- Criterios de Aceptación: coeficiente de regresión mayor a 0,995 y coeficientes de variación de las áreas menores al 5%. A su vez para obtener un mejor indicador del modelo lineal, se evaluaron las curvas de calibración mediante la prueba estadística de *t-Student*.

Se calculó un valor de t con n-2 grados de libertad y se comparó con el valor tabulado de t para el nivel de confianza requerido ( $\alpha= 0,05$ ), dos-colas.

La hipótesis nula  $H_0$  es que no existe correlación entre X e Y.

$$t_r = \frac{|r|\sqrt{(n-2)}}{\sqrt{(1-r^2)}}$$

donde:

$t_r$ : valor del estimador t Student obtenido para el coeficiente de correlación.

|r|: valor absoluto del coeficiente de correlación.

n-2: número de grados de libertad.

$r^2$ : valor del coeficiente de determinación.

- Criterio de aceptación: si el valor de  $t_r$  es mayor que  $t_{cri}$ , se rechaza la hipótesis nula  $H_0$ , siendo la correlación lineal significativa con la probabilidad calculada.

B. Linealidad del método: con este parámetro se busca determinar la concentración de florfenicol y su respuesta en presencia de la matriz del producto. Se prepara el producto a concentraciones en el rango de 80%-90%-100%-110% y 120% de la concentración declarada en el producto.

- Criterios de Aceptación: Coeficiente de regresión ( $R^2$ ): Mayor a 0,990.

Procentaje de Recuperación entre 95%-105% para todos los niveles de concentración.

3. Exactitud: se define como el grado de concordancia entre el resultado de un ensayo y el valor de referencia.

Cuando se aplica a un método de ensayo, este término se refiere a una combinación de veracidad y precisión. Entre más veraz y preciso sea un resultado analítico, más exacto es.

- A. Veracidad: determina el grado de coincidencia existente entre el valor medio obtenido de una serie de resultados y un valor de referencia aceptado. La veracidad puede ser determinada por sesgo o recuperación.

Para medir este parámetro se verificará a través de la recuperación. Se entiende como recuperación (R) a la fracción de la sustancia agregada a la muestra fortificada antes del análisis, al ser analizadas muestras fortificadas y sin fortificar.

Se recomienda evaluar en un mínimo de 9 determinaciones cubriendo un rango de tres concentraciones<sup>9</sup>.

Se cuantificará la concentración de florfenicol en tres muestras del producto terminado, a un nivel bajo (80% de lo declarado), nivel intermedio ( 100% de lo declarado) y un nivel alto (120% de lo declarado). Cada nivel se medirá por triplicado.

- Criterio de Aceptación: porcentaje de recuperacion entre 95%-105% para los tres niveles.



Al evaluar la recuperación es necesario realizar la prueba *t Student*, para grados de libertad ( $\nu$ ) y el porcentaje de seguridad de  $1-\alpha$  para un error  $\alpha$  de 0,05, es decir, con un 95% de confianza.

$$t_{cal} = \frac{(100 - R\%)}{S \times \sqrt{n}}$$

donde:

$t_{cal}$ : t observado o calculado.

R: recuperación.

S: desviación estándar de las lecturas del porcentaje de recuperación.

n: N° de lecturas o valores observados.

- Criterio de Aceptación:  $t_{cal} \leq t_{crit}$ .

B. Precisión: corresponde a la dispersión de la medida alrededor de un valor medio. Se medirá la precisión como repetibilidad y precisión intermedia.

- a. Repetibilidad: Es la precisión bajo condiciones de repetibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de análisis independientes se obtienen con el mismo método, en ítems de análisis idénticos en el mismo laboratorio por el mismo operador utilizando el mismo equipamiento dentro de cortos de tiempo.

Para ello se determinaron 10 mediciones bajo las mismas condiciones de un analito. Se calcula la desviación estándar (SD) y el porcentaje de coeficiente de variación (CV%).

- Criterios de Aceptación:  $CV \leq 5\%$ .

A su vez es posible ocupar como criterio de aceptabilidad el coeficiente de variación de Horwitz<sup>10</sup>:

$$CV\% = \frac{2^{(1-0,5)\log C}}{2}$$

donde:

C: valor nominal del analito expresado en potencia de 10.

- Criterio de Aceptación: CV% experimental debe ser menor al coeficiente de variación de Horwitz.

Otro criterio de aceptación en base al valor obtenido para el porcentaje de recuperación, corresponde al criterio de la Association of Official Analytical Chemists(AOAC).

- Criterio de aceptación: % de recuperación se encuentra dentro del rango de % de recuperación teórico esperado. Para una concentración de 10 ppm el % de recuperación estimado es del 80%-110%.

En la Tabla N°3 se presenta el criterio AOAC para el porcentaje de recuperación.

Tabla N°3: Tabla AOAC para el porcentaje de recuperación.

Analito	Unidad	Recuperación estimada (%)
100	100 %	98 – 102
10	10 %	98 – 102
1	1 %	97 – 103
0,1	0,10 %	95 – 105
0,01	100 ppm	90 – 107
0,001	10 ppm	80 – 110
0,0001	1 ppm	80 – 110
0,00001	100 ppb	80 – 110
0,000001	10 ppb	60 – 115
0,0000001	1 ppb	40 – 120

b. Precisión intermedia: es la precisión bajo las condiciones de reproducibilidad, es decir, condiciones donde los resultados de los

análisis se obtienen con el mismo método en ítem idénticos de análisis pero en condiciones diferentes, ya sea de laboratorio, diferente día, diferente operario, etc.

Para ello se determinaron 10 mediciones bajo las mismas condiciones pero con dos semanas de diferencia y diferente operario.

Se calculó el promedio y la desviación estándar de las concentraciones experimentales y el coeficiente de variación de las 20 muestras correspondientes.

- Criterios de Aceptación:  $CV \leq 5\%$ .

A su vez es posible ocupar como criterio de aceptabilidad el coeficiente de variación de Horwitz en condiciones de reproducibilidad:

$$CV\% = \frac{2x(2^{(1-0,5)\log C})}{3}$$

- Criterio de aceptación: CV% experimental debe ser menor al coeficiente de variación de Horwitz.
4. Incertidumbre: parámetro asociado al resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que podrían razonablemente ser atribuidos al mesurando<sup>10</sup>. Es una expresión cuantitativa compuesta tanto de los errores sistemáticos y aleatorios asociados al proceso de una determinación analítica. Luego el proceso analítico aporta con una serie de incertidumbres que son conocidos como incertidumbres estándares que se expresan como desviación estándar, en este caso serán de dos tipos, la precisión de repetibilidad ( $\mu$  prec) y el sesgo por recuperación ( $\mu$  rec). Luego cada incertidumbre estándar debe expresarse como incertidumbre relativa esto a través de las siguientes ecuaciones<sup>10</sup>:

$$\mu \text{ relativa precisión} = \frac{\text{DS Repetibilidad} \times 100}{X}$$

donde

X: promedio de precisión.

$$\mu \text{ relativa recuperación} = \frac{\text{DS Recuperación} \times 100}{X}$$

donde:

X: promedio de recuperación.

Para obtener la incertidumbre combinada ( $\mu_c$ ) se utiliza la siguiente ecuación:

$$\mu \text{ combinada} = \sqrt{[(\mu \text{ relativa precisión})^2 + (\mu \text{ relativa recuperación})^2 / \sqrt{n}]}$$

Para obtener la incertidumbre expandida (U), se debe multiplicar por un factor de cobertura. Generalmente se utiliza un  $k=2$ , correspondiente a un nivel de confianza  $(1-\alpha)$  del 95%.

$$U = 2 \times \mu \text{ combinada}$$

5. Límite de detección (LD): este parámetro expresa la menor cantidad de analito presente en el producto que puede ser detectado pero no necesariamente cuantificado con exactitud y precisión. Para ello se mide la señal de 10 muestras a la dilución más baja de analito que experimentalmente presenta una señal. Se calcula el promedio y la desviación estándar (SD).

Límite de detección corresponderá a:

$$LD: \text{promedio} + 3,3 SD$$

6. Límite de cuantificación: es una característica del funcionamiento del método que suele expresarse como señal del valor (verdadero) de la medición que producirá estimaciones con desviaciones estándar relativa

(RSD) generalmente de 10%. Para esto se mide la señal de 10 muestras. Se calcula el promedio y la desviación estándar (SD).

Límite de cuantificación será:

$$LD: \text{promedio} + 10 SD$$

7. Robustez: Es una medida de la capacidad de un procedimiento analítico de no ser afectado por variaciones pequeñas pero deliberadas de los parámetros del método, proporciona un indicativo de la fiabilidad del procedimiento en un uso normal.

Este parámetro fue evaluado mediante variaciones en el flujo (mL/min).

- Criterio de Aceptación: variaciones menores a 0,5 minutos en su tiempo de retención y un coeficiente de variación (CV) menor al 5%.

Las condiciones cromatográficas se detallan en el **Anexo N° I**

#### **5.2.4 Determinación del porcentaje de recuperación para el “peor caso”.**

A pesar que el método de hisopado es la técnica mayormente usada para la toma de muestras desde las superficies, es necesario verificar si se está extrayendo el contaminante de forma adecuada, si cede al solvente de extracción y si se cuantifica de forma tal que se logre evitar falsos negativos como resultado<sup>11</sup>.

Se establecieron tres métodos de hisopado para la toma de muestras desde la superficie de los equipos y se eligió aquella que obtuviera el mayor porcentaje de recuperación. Este proceso involucra el uso de un solvente de extracción, en el cual el principio activo trazador es soluble, para este caso el solvente de extracción fue acetonitrilo grado HPLC.

Por política del Departamento de I+D, cada metodología debe ser probada en fortificado a tres concentraciones distintas y por triplicado. Para ello se procedió

de la siguiente forma: se realizaron los tres métodos de hisopado a una concentración baja de solución estándar de florfenicol. Para aquel método que presentó mayor porcentaje de recuperación, se realizaron las otras dos pruebas a concentraciones mayores en el fortificado.

A continuación, se detallan los tipos de muestreos:

### **Método A**

Sobre la muestra de la placa metálica de 5 cm x 5 cm se realizó el hisopado con tórula seca. Una vez terminado el hisopado, la tórula se introduce en un tubo rotulado y precargado con 10 mL del solvente de extracción, se dejó reposar durante 1 hora y luego se agitó mediante agitador vórtex durante 5 minutos. Se traspaso al vial mediante filtro de membrana PTFE de 0,22  $\mu\text{m}$  y luego se midió en equipo HPLC.

### **Método B**

Sobre la muestra de la placa metálica de 5 cm x 5 cm se realizó el hisopado con tórula previamente humedecida con el solvente de extracción. Una vez terminado el hisopado, la tórula se introduce en un tubo rotulado y precargado con 10 mL del solvente de extracción, se dejó reposar durante 1 hora y luego se agitó mediante agitador vórtex durante 5 minutos. Se traspaso al vial mediante filtro de membrana PTFE de 0,22  $\mu\text{m}$  y luego se midió en equipo HPLC.

### **Método C**

Sobre la muestra de la placa metálica de 5 cm x 5 cm se realizó el hisopado con tórula seca. Una vez terminado el hisopado, se escurrieron sobre la punta de la tórula 10 mL del solvente de extracción que se depositan sobre un tubo previamente rotulado y vacío, se dejó reposar durante 1 hora y luego se agitó mediante agitador vórtex durante 5 minutos. Se traspaso al vial mediante filtro de membrana PTFE de 0,22  $\mu\text{m}$  y luego se midió en equipo HPLC.

El detalle de las condiciones cromatográficas utilizadas en la metodología analítica se detalla en el **Anexo I**.

El procedimiento usado para los tres métodos fue el siguiente:

1. Se preparó una solución estándar de florfenicol de concentración de 10  $\mu\text{g}$  florfenicol/mL
2. Con una micropipeta se tomó 1000  $\mu\text{L}$  de solución estándar de florfenicol y se depositó uniformemente sobre una superficie de 25  $\text{cm}^2$  de acero inoxidable, material similar a la superficie de los equipos.
3. Se secó la superficie de la lámina en placa calefactora a 40°C.
4. Se realizó el muestreo por hisopado en triplicado, por los tres métodos, abarcando los 25  $\text{cm}^2$  de superficie de la lámina de acero inoxidable. La forma de realizar el hisopado consistió en frotar el extremo de la tórula metódicamente sobre la superficie de 25  $\text{cm}^2$ , rotándola entre los dedos pulgar e índice en 4 direcciones como se muestra en la siguiente Figura N°1:

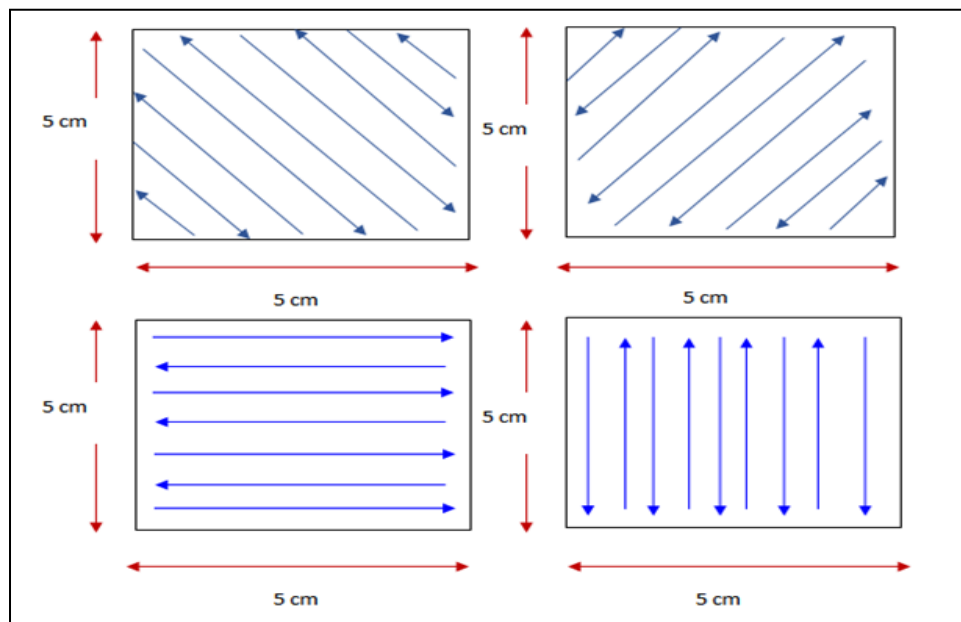


Figura N°1: Muestreo de superficies<sup>12</sup>.

Las pruebas de hisopados fueron realizadas a una concentración más baja que el centro de la curva de calibración (10 veces menor), por lo cual fue necesario realizar una curva de calibración con un centro cercano a la concentración esperada en la placa de acero inoxidable (1 µg/mL).

Procedimiento curva de calibración con un centro de 1 µg/mL:

1. A partir de un estándar de florfenicol de 10 µg/mL se tomaron alícuotas de 0.5, 0.7, 1.0, 1.2, 1.5 µg/mL y fueron diluidas en matraces de 5 mL aforados con la solución fase móvil, Acetonitrilo-Agua clase 1 (30:70).
2. Se homogenizaron y traspasaron a viales a través de filtros de membrana PTFE de 0,22 µm.
3. Luego se midieron en equipo HPLC, según el procedimiento ya establecido.

La razón de áreas obtenidas se interpolaron en la ecuación de la recta detallada anteriormente para obtener la concentración de florfenicol en la muestra y determinar el porcentaje recuperado.

El porcentaje recuperación se comparó con la siguiente tabla (N°4):

Tabla N°4: Criterio de aceptación porcentaje de recuperación<sup>13</sup>.

Porcentaje de Recuperación	Criterio
>80 %	Bueno
50-80%	Razonable
<50 %	Cuestionable

Se elegirá como el método óptimo aquel que<sup>13</sup>:

- Posea el porcentaje de recuperación más alto entre los tres métodos.
- El porcentaje de recuperación esté por sobre el 80%.
- El CV de la áreas obtenidas sea menor al 5 %.

Una vez obtenido el método óptimo se realizarón las pruebas en el fortificado con concentraciones de 100 y 150 µg/mL de una solución estándar de florfenicol. El procedimiento utilizado corresponde al descrito anteriormente en el punto 5.3.4.



### **5.2.5 Límites de aceptación para el contaminante “peor caso”.**

El límite de aceptación es un paso fundamental y crítico para decidir cuánto es lo suficientemente limpio. Este límite es individual en cada laboratorio y para cada principio activo. Por este motivo el límite para el contaminante “peor caso” debe ser “práctico, lógico, loggable y verificable” asegurando así trazabilidad en el proceso de validación<sup>14</sup>.

Los límites para el producto “peor caso” se basaron en los tres criterios descritos por Fourman y Mullen<sup>14</sup>:

1. Criterio Visual: este criterio indica que no deben permanecer residuos visibles de producto en los equipos después de aplicados los procedimientos de limpieza descritos. Es un límite de tipo organoléptico y subjetivo, por lo cual depende de diversos factores, como de la capacidad visual del observador, la iluminación del área, etc. El ojo humano es capaz de visualizar un mínimo de partículas que va desde los 4 hasta los 20  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ . La inspección visual es un criterio básico de las normas GMP, ya que siempre se debe efectuar una inspección organoléptica antes de fabricar el producto siguiente, dado que el procedimiento de limpieza no puede ser aprobado si una superficie está visualmente sucia.
2. Criterio de trazas: establece que cualquier ingrediente activo puede estar presente en un producto posteriormente fabricado hasta un nivel máximo de 10 ppm.
3. Criterio de la Dosis Terapéutica: indica que la cantidad de principio activo (A) en el lote del producto siguiente (B), no debe ser más del 0,1% (1/1000) de la concentración más baja del mercado para el activo presente en el producto A. Se sabe que 1/10 de la dosis de ingrediente activo no posee

efecto farmacológico. Las otras dos potencias de 10 son factores de seguridad. Los factores de seguridad son un elemento importante debido a que hay que asumir que los residuos no se distribuyen de forma homogénea en la zona de contacto ni en el siguiente producto, lo que puede provocar que se concentre en algunas zonas y sólo en algunas unidades del siguiente producto (B). El factor de seguridad varía según la vía de administración.

En la Tabla N°5 se detalla el factor de seguridad según la vía de administración<sup>15,16</sup>.

Tabla N°5: Factor de seguridad según la vía de administración.

Vía de Administración	Factor de Seguridad
Tópico	10-100
Oral	100-1000
Parenteral	1000-10000

Dentro de estos tres criterios aquel que presente el valor más restrictivo, es decir, el valor más bajo, será el utilizado para establecer la cantidad máxima de producto Peor Caso que puede pasar al siguiente producto a fabricar. Este valor se denomina L1 -Límite en el siguiente producto-.

Según la técnica de muestreo utilizada (hisopado o enjuague con solvente de extracción), se necesitan conocer otros datos: superficie de contacto que tiene cada equipo con el producto, área de la superficie a muestrear, volumen total del líquido de extracción con la que se realiza el enjuague del equipo. Además, para las muestras obtenidas por hisopado es necesario considerar el factor de recuperación (FR), el cual es el porcentaje de recuperación del producto “peor caso” expresado como tantos por uno.

A continuación, se detalla el cálculo de los límites:

#### **Cálculo del límite en el siguiente producto (L1)**

- Criterio Visual:

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (g)}}$$

4 µg\* corresponde al valor más restrictivo del criterio visual

- Criterio de trazas:

$$\frac{10 \text{ µg de principio activo A}}{1 \text{ g de producto B}} = 10 \text{ ppm}$$

- Criterio de la dosis terapéutica<sup>12</sup>:

$$\frac{1}{1000} \times \frac{\text{Dosis Diaria Mínima principio activo A (µgA/día)}}{\text{Dosis Diaria Máxima Producto B (}\frac{\text{gB}}{\text{día}}\text{)}}$$

Donde **A** corresponde al “Peor Caso” y **B** al producto siguiente a fabricar.

### **Límite por área de superficie y límite de enjuague (L2)**

- Para muestras obtenidas por hisopado en µg/cm<sup>2</sup>:

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (mL)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}$$

- Para muestras obtenidas por enjuague en µg/mL:

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (mL)}}{\text{Volumen del líquido de enjuague (mL)}}$$

### **Límite de residuo para la muestra a analizar (L3)**

- Para muestras obtenidas por hisopado en µg/mL:

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreada (cm}^2\text{)}}{\text{Volumen del líquido de extracción (mL)}} \times \text{FR}$$

Donde **FR** corresponde al factor de recuperación para el método de hisopado

- Para muestras obtenidas por enjuague en  $\mu\text{g}/\text{mL}$

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreada por enjuague (cm}^2\text{)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}$$

### 5.2.6 Determinación de los puntos críticos de limpieza del equipo.

La determinación de los puntos para la toma de muestra se basó en los siguientes principios<sup>7</sup>:

- Dificultad de limpieza, zonas de difícil acceso.
- Producto contaminante en contacto directo con el equipo.
- Áreas propensas a la acumulación del producto en el equipo.
- Posibilidad de que el producto se acumule por suspensión en el tiempo.

La elección de los puntos críticos se eligieron realizando una inspección visual tanto en el proceso de producción como en su etapa final y además verificando la dificultad de limpieza en el proceso de lavado de las partes del equipo.

El equipo de producción, se realizó a medida, de tal forma que todas las partes de él se encuentran unidas en serie para facilitar la fabricación de grandes volúmenes de producto. En la Figura N°2 se muestra la distribución del equipo en la planta farmacéutica. En ella, se aprecia en el tercer piso la campana de incorporación de principio activo y el mezclador central de 6 paletas. En el segundo nivel, se encuentra el cernidor y el silo (área de paso del producto) y en el nivel inferior la dosificadora.

## Planta Farmacológicos de Gran Volumen

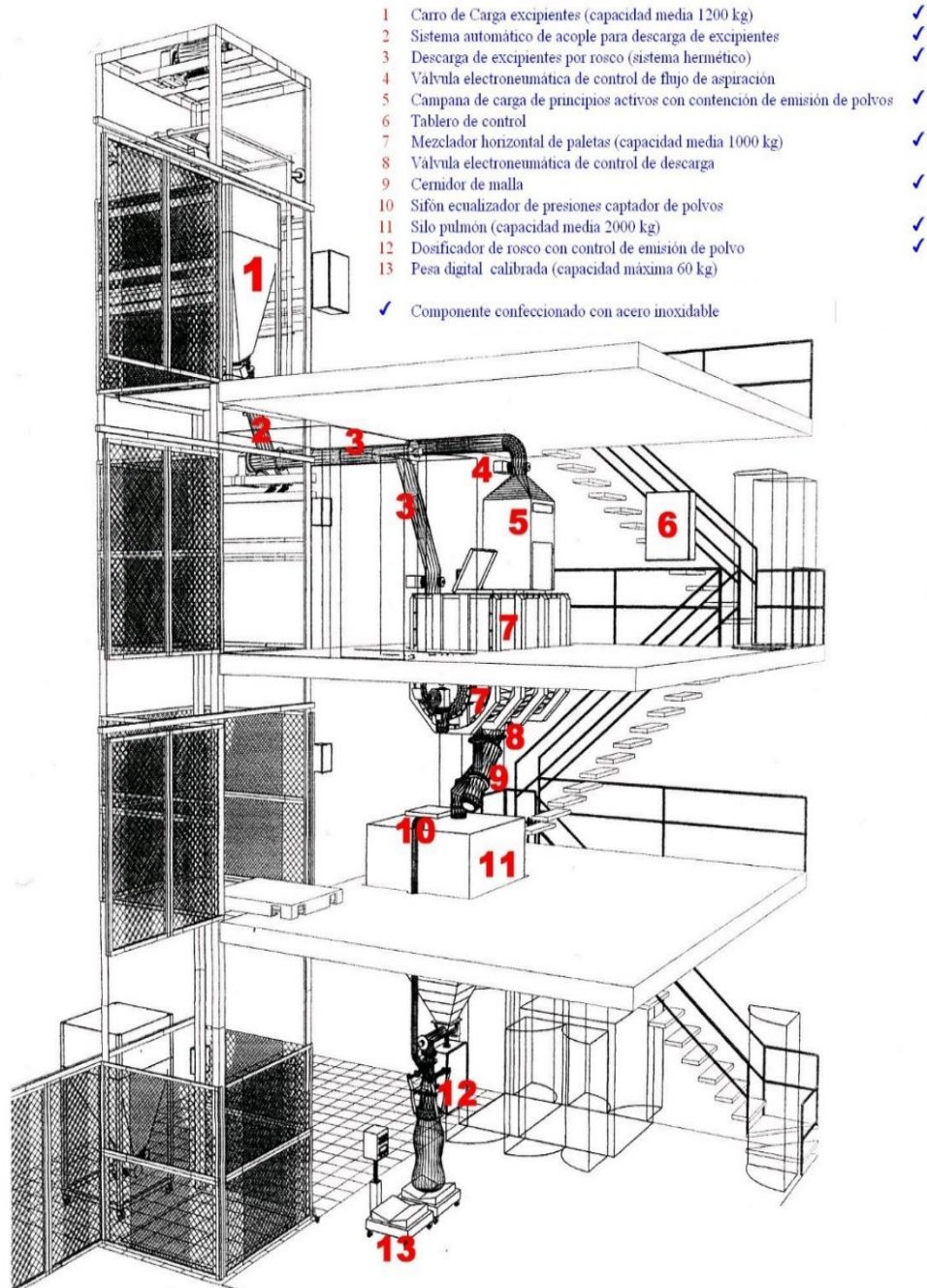


Figura N°2: Distribución del equipo en la planta de producción.

Como requerimiento es necesario realizar al menos tres ciclos de limpieza en forma satisfactoria para validar los procedimientos de limpieza<sup>17</sup>. Para esto, el primer ciclo se consideró exploratorio para verificar la eficacia del lavado (ejecución de los POEs y efectividad de los productos de aseo), por lo cual, se muestrearon cinco puntos por parte del equipo en aquellas zonas de gran área y para las zonas pequeñas un solo punto, dando un total de dieciséis puntos de análisis por hisopado. Para los siguientes ciclos, cada punto fue realizado en triplicado.

### 5.2.7 Determinación residuos de detergente<sup>3</sup>

La limpieza de los equipos es realizada con el detergente ácido VQ<sup>®</sup>-30. Por su formulación con ácido fosfórico posee propiedades desoxidantes, con alto poder de remoción óxidos e incrustaciones. No se inflama y no presenta un riesgo específico para la salud. En la tabla N° 6, se muestran las especificaciones técnicas del detergente.

La dilución utilizada es la más baja correspondiendo a 1:100<sup>2</sup>.

Tabla N°6: Especificaciones técnicas VQ<sup>®</sup>-30.

Detergente	VQ <sup>®</sup> -30
<b>Estado Físico</b>	Líquido
<b>Apariencia y olor</b>	Líquido transparente incoloro, olor característico a tensoactivos.
<b>Concentración</b>	20-30%
<b>pH al 10%</b>	< 2%
<b>Solubilidad</b>	Completamente soluble en agua.

Para la determinación de trazas de detergente luego de la limpieza de los equipos, se escogió como método de muestreo el enjuague, el cual consiste en tomar muestras del agua de los últimos enjuagues realizada con agua desionizada (agua utilizada en control de calidad). El límite establecido fue 10 ppm, ya que no hay criterios de aceptación aún claros para los residuos de detergente, por lo cual se optó por considerar el mismo criterio de contaminación utilizado para principios activos. La técnica de análisis utilizada fue la

conductividad de las muestras. Para ello se validó este método analítico por medio del parametro de linealidad. Se realizó una curva de calibración de concentración de detergente (ppm) vs conductividad ( $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

### 5.2.8 Contaminación microbiológica

Un eficiente proceso de limpieza debe contemplar una sanitización adecuada capaz de controlar la proliferación microbiana por debajo de los limites establecidos.

Con las pruebas de contaminación microbiológica se buscó descartar la presencia por sobre los niveles permitidos de mesófilos aeróbicos, hongos y levaduras y la existencia de los microorganismos patógenos: *Escherichia coli*, *Salmonella sp*, *Staphylococcus aureus*.

Las muestras se obtuvieron desde la superficie de los equipos con la técnica de hisopado luego de realizada la sanitización.

Los límites establecidos para cada microorganismo fueron designados según el área de fabricación, en este caso, la sección de polvos orales se clasifica en un área clase D. En la tabla N°7, se muestran los límites de aceptación de contaminación microbiológica.

Tabla N°7: Límites de aceptación de contaminación microbiológica área de fabricación clase D<sup>5</sup>.

Microorganismo	Límite de aceptación
Mesófilos aeróbicos	25 UFC/ $\text{cm}^2$
Hongos y levaduras	25 UFC/ $\text{cm}^2$
Microorganismos patógenos	Ausencia

### 5.3 Validación de limpieza y sanitización de equipos

Una vez terminada la recopilación de datos previos a la validación, se da inicio a las tomas de muestras de los equipos para verificar la limpieza y sanitización realizada según los respectivos POEs.

### **5.3.1 Validación de la limpieza.**

Se utilizaron distintos métodos de muestreo para abarcar mayor superficie de los equipos y cubrir la presencia de más de un posible contaminante los que detallan a continuación:

#### **5.3.1.1 Validación de la limpieza: inspección visual**

El objetivo de la verificación visual es significativo, ya que si una superficie está visualmente sucia, entonces los procedimientos de limpieza no son aceptables o están fuera de control, no cumpliendo así un criterio básico de los parámetros GMP.

El resultado de la verificación de limpieza por inspección visual será conforme si luego de aplicados los procedimientos de limpieza y sanitización, no se encuentran restos visibles del producto fabricado anteriormente.

#### **5.3.1.2 Validación de la limpieza: muestreo por hisopado**

Tiene por objetivo encontrar residuos del contaminante “peor caso” determinado en el análisis de riesgo. Se efectuaron las tomas de muestras según lo determinado en los ensayos de porcentaje de recuperación para florfenicol. En este caso el método escogido corresponde al B, el que consistió en hacer el muestreo con la tórula ya humedecida con el solvente de extracción. A continuación se detalla paso a paso como se realiza el muestreo:

1. Se prepararon tubos de ensayos precargados con 10 mL de solvente de extracción, acetonitrilo grado HPLC.
2. Las tórulas fueron introducidas en los correspondientes tubos para humedecerlas.
3. Se hizo escurrir el exceso de solvente por las paredes del tubo.
4. Cada punto crítico fue muestreado abarcando una superficie de 25 cm<sup>2</sup>, delimitados por un marco para toma de muestras.



5. Las muestras fueron llevadas a control de calidad para su preparación y análisis.
6. Las razones de áeras obtenidas fueron interpoladas en la ecuación de la recta de la metodología analítica.
7. Se compararon los datos obtenidos con los límites de limpieza establecidos y se entregaron los resultados de conformidad o no conformidad.

El resultado se consideró conforme si la concentración de contaminante “peor caso” encontrada en las muestras analizadas no era mayor a los límites de aceptación.

#### **5.3.1.3 Validación de la limpieza: muestreo por enjuague con solvente de extracción**

Este método de muestreo fue utilizado como complemento al método de hisopado, ya que es un método que permite el muestreo en puntos de difícil acceso o inaccesibles y además logra cubrir una mayor superficie de muestreo.

Los pasos generales utilizados fueron los siguientes:

1. Enjuagar el equipo o sus partes con acetonitrilo grado HPLC (solvente de extracción).
2. Recolectar el líquido en un vaso precipitado.
3. Trasladar las muestras a Control de Calidad para su análisis según el método analítico determinado.
4. Comparar los datos obtenidos con los límites de limpieza establecidos y entregar los resultados de conformidad o no conformidad.

El resultado se consideró conforme si la concentración de contaminante “peor caso” encontrada en las muestras analizadas no era mayor a los límites de aceptación.

#### **5.3.1.4 Validación de la limpieza: muestreo del agua de enjuague**

El método busca descartar la presencia de residuos de detergente por sobre los niveles establecidos una vez terminado el proceso de limpieza, el muestreo se realiza según las siguientes etapas:

1. Verificar el detergente utilizado en el proceso de limpieza haya sido el VQ®-30, en la dilución adecuada (1:100).
2. Enjuagar el equipo con agua desionizada.
3. Recolectar el agua de enjuague en un vaso precipitado.
4. Trasladar a Control de Calidad y realizar su análisis mediante medición de conductividad.
5. Interpolarse los datos obtenidos en la curva de calibración obtenida para el detergente.
6. Comparar la concentración del detergente obtenida con el límite establecido.

El resultado se consideró conforme si la concentración de detergente encontrada es menor a 10 ppm (32,08  $\mu\text{S}/\text{cm}$ ).

#### **5.3.1.5 Validación de la sanitización**

A través de esta verificación se establece si la sanitización con alcohol al 70% es efectiva reduciendo la carga microbiana y eliminando los microorganismos patógenos. Para ello el muestreo se realizó a través del método de hisopado con el material provisto por el laboratorio externo (tórula humedecida en 10 mL de solución neutralizante). El método de muestreo fue el siguiente:

1. Abrir el frasco por la tapa (tórula unida a la tapa).
2. Realizar el hisopado una vez seco el equipo (mínimo 30 minutos después de realizado la sanitización).
3. Cerrar el tubo.
4. Rótular y enviar las muestras al laboratorio externo para su análisis.

Una vez recibidos los resultados por parte del laboratorio externo se procedio a comparar con los límites permitidos según el área de fabricación. Si los resultados están dentro de lo establecido, se informa como conforme la sanitización.

## 6. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 6.1 Validación de metodología analítica

#### 6.1.2 Determinación especificidad o selectividad

En la tabla N°8, se muestra los resultados de los ensayos realizados para la determinación de la selectividad.

Tabla N° 8: Detalle del tipo de ensayo de selectividad y su resultado.

Tipo de Ensayo	Especificación de Pureza	Resultado
Selectividad al medio de disolución	No hay presencia de señales al tiempo de retención del florfenicol	<b>Sin señal</b>
Selectividad a la matriz	No hay presencia de señales al tiempo de retención correspondiente a la glucosa monohidratada (excipiente)	<b>Sin señal</b>
Comparación entre resultados	El tiempo de retención es similar tanto para el estandar de florfenicol y el producto terminado.	<b>Señales similares</b>

A través de los resultados obtenidos se verifica que la matriz del producto terminado no presenta un *peak* en el tiempo de retención del principio trazador, no interfiriendo en su medición. A su vez, los tiempo de retención del estándar y el producto terminado, presentan una variación menor a 0,5 minutos, por lo cual se concluye que el método es selectivo para florfenicol.

#### 6.1.3 Determinación de la linealidad

##### 6.1.3.1 Linealidad del sistema

Se realizaron tres curvas de calibración externas en días distintos, a niveles de 5,7,10,12 y 15 µg/mL (ppm) con el propósito de evaluar el comportamiento lineal, presentándose correlaciones superiores a 0,99937 (r), sin cambios significativos entre las pendientes.

Todas los coeficientes de variación son menores al 5% y los  $r^2$  son mayores al 0,995 , por lo cual se considera que el sistema cumple el parámetro de linealidad según los criterios de aceptación ocupados por el laboratorio.

Por otra parte se realiza la evaluación estadística de prueba t-Student, como un mejor indicador del modelo lineal

Para las tres curvas de calibración se observó una correlación lineal, existiendo una relación significativa entre las variables X e Y a un nivel de significancia del 95%, cumpliendo con la prueba t-Student ( $t_{\text{calculado}} > t_{\text{tabla}}$ ), obteniéndose los siguientes valores: 74,44 curva 1, 86,58 curva 2, 52,18 curva 3, mientras que el valor de  $t_{\text{tabla}}$  es de 3,182.

#### **6.1.3.2 Linealidad del método.**

Se realizó una curva de calibración del producto terminado a niveles de 8,9,10,11 y 12  $\mu\text{g/mL}$  (ppm) , para determinar linealidad en presencia de la matriz.

Todos los niveles presentan porcentaje de recuperación entre 100%-104%, considerandose un resultado aceptado (rango de aceptación 95%-105%). Además la curva presenta un coeficiente de correlación al cuadrado  $r^2$ : 0,9935 mayor al mínimo establecido ( $r^2$ :0,990), por lo cual, se concluye que el método es lineal según los criterios de aceptación.

#### **6.1.4 Determinación exactitud**

##### **6.1.4.1 Veracidad**

Para el estudio de la exactitud se requiere la evaluación de la recuperación de florfenicol de cada muestra de concentraciones del 80%, 100% y 120% de la concentración estimada del analito. El porcentaje de recuperación para los tres niveles estudiados están dentro del límite establecido (resultados de 99 a 102,8 %). Por otro lado, se realiza la prueba t-Student para grados de libertad ( $v$ ) y el porcentaje de seguridad deseado ( $1-\alpha$ ), con un 95% de confianza. De acuerdo

con los datos obtenidos ( $t_{\text{calculado}} : 0,044 < t_{\text{tabla}} : 2,306$ ), no existe diferencia significativa entre la recuperación media y 100% para la metodología analítica en estudio.

De acuerdo a los valores otorgados por AOAC a un nivel de 10  $\mu\text{g/mL}$  (ppm) el valor aceptable es de 80 a 110% de recuperación, por lo cual los valores obtenidos serían aceptables para el nivel medido en la matriz analizada (99-102,8%). Con todos estos resultados se puede señalar que se cumple con el parámetro de exactitud.

#### **6.1.4.2 Precisión.**

##### **6.1.4.2.1 Repetibilidad.**

Se realizó la medición simultánea (mismo día) de 10 muestras de producto terminado, realizando las diluciones necesarias para medir 10  $\mu\text{g/mL}$  (ppm).

De acuerdo a los resultados obtenidos, el coeficiente de variación es menor a 5% (resultado obtenido, 1,5%), cumpliendo con el criterio de aceptación del procedimiento interno del laboratorio. A su vez este valor cumple con el criterio de aceptación de Horwitz, que para 10 ppm de concentración y en condiciones de repetibilidad, se estima que deben ser menores a 5,66%.

##### **6.1.4.2.2 Precisión Intermedia.**

Para su determinación, se estudió las concentraciones de las 20 muestras de florfenicol en producto terminado.

A través del coeficiente de variación intersemana para las 20 muestra se obtiene que cumplen con el criterio de aceptación ( $CV < 5\%$ ) propuesto, obteniéndose un CV de 3,29%. Por su parte el coeficiente de variación de Horwitz en condiciones de reproducibilidad y para una concentración de 10 ppm corresponde a 7,54%, de esta forma y según los resultados obtenidos, se observa que se cumple este criterio de aceptación ( $CV\%$  obtenido 3,29 vs 7,54 de Horwitz).

#### 6.1.4.3 Determinación Incertidumbre.

Según los valores obtenidos tanto para la precisión de repetibilidad y para el sesgo por recuperación, se calcula el  $\mu$  relativo para cada uno, luego es posible calcular el  $\mu$  combinado de ambas, los resultados se muestran en la siguiente tabla(N°9).

Tabla N°9: Resultados para  $\mu$  relativos de repetibilidad, recuperación,  $\mu$  combinado y  $\mu$  expandida.

$\mu$ Relativo de Repetibilidad	$\mu$ Relativo de Recuperación	$\mu$ Combinado	$\mu$ Expandida
1,5	3,02	1,89	3,79

Es decir, la medida de florfenicol en la validación, estará dada por  $100,4 \pm 3,79$  o bien en términos de concentración como  $10,04 \pm 0,0379$   $\mu\text{g/mL}$ .

#### 6.1.4.4 Determinación de Límites de Detección y Cuantificación.

Por medida del laboratorio, el límite de detección a evaluar corresponde a una décima parte del punto más bajo de la curva de calibración, es decir, 0,5 ppm.

Para las diez muestras analizadas se obtuvo un coeficiente de variación (%CV: 1,3) menor al límite establecido( %CV:  $\leq 5$ ) y en conjunto un porcentaje de recuperación del 95% (Limite: 95%-105%). Por lo cual se considera que los resultados son aptos para el calculo de ambos límite, obteniendose así un límite de cuantificación de 0,5 ppm y de detección de 0,54 ppm, los cuales se presentan en la tabla N° 10.

Tabla N°10: Resultado para límite de detección y límite de cuantificación.

Promedio de las Concentraciones (ppm)	DS	CV %	Límite de Detección (ppm) (Promedio + 3 DS)	Límite de Cuantificación (ppm) (Promedio + 10 DS)
0,48	0,006	1,3	0,50	0,54

#### 6.1.4.5 Determinación robustez

La robustez fue medida mediante la variación de flujo. Se analizaron tres muestras a tres flujos distintos ( 0,95 mL/min; 1,00 mL/min; 1,05 mL/min). En la tabla N° 11 se muestran los resultados para la robustez.

Tabla N°11: Resultados robustez.

Flujo	CV% Área	CV% tiempo	Comparación	Promedio área	DS área	CV% área	Promedio tiempo	DS tiempo	CV% t	
1,00 mL/min	0,18%	0,13%		Comparación	164737	5163	3,1%	4,24	0,182	4%
0,95 mL/min	0,46%	0,000%								
1,05 mL/min	0,32%	0,143%								

Tanto el coeficiente de variación de las muestras como el tiempo máximo permitido de variación cumplen con los criterios de aceptación, por lo cual, se acepta que el método puede sufrir variaciones de flujo sin cambiar significativamente los resultados.

El detalle de los resultados, áreas y cálculos de todos los parámetros se muestran en el **Anexo I**.

El principio activo (florfenicol) es utilizado en diversos productos, los cuales contaban con su metodología analítica validada. Por lo cual, para este producto terminado en estudio, se realizó la validación de los parámetros exigidos por la EMEA y no se realizaron estudios de degradación forzada (fotólisis, termólisis, hidrólisis ácida y básica). A pesar de ser la EMA una entidad de referencia para sustancias veterinarias, se sugiere usar las directrices recomendadas por el ISP, utilizando sistemas estadísticos para mejorar los criterios de aceptación. Uno de los puntos incluidos por el ISP corresponde a la medición de Incertidumbre, existiendo dos tipos (A y B), siendo el tipo A la informada en este trabajo. Esta incertidumbre corresponde a una evaluación de un componente por análisis estadístico de los valores de mediciones obtenidos en condiciones de repetibilidad<sup>10</sup>. Es necesario destacar que se validó la metodología analítica para el producto terminado, pero un mejor plan de validación hubiese contemplado el desarrollo y validación de un procedimiento de muestreo y análisis en residuos de limpieza que permanecen sobre la superficie del equipo de producción, pero por tiempo no pudo ser realizado<sup>18</sup>.



## 6.2 Determinación del porcentaje de recuperación

### 6.2.1 Determinación del porcentaje de recuperación de concentración 10 µg/mL.

Los valores obtenidos mediante el análisis cromatográfico, se interpolaron en la curva de calibración con centro 1 µg/mL.

Ecuación de la recta:

$$y = 16134x - 238,6 \quad R^2: 0,999$$

Donde **x** corresponde a la concentración de florfenicol en ppm (µg/mL) e **y** al área obtenida.

En la siguiente tabla (N°12), se presentan los porcentajes de recuperación obtenidos mediante los tres métodos de hisopados propuestos.

Tabla N°12: Resultado porcentaje de recuperación para los tres métodos.

Método	µg florfenicol agregados en la placa	µg florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
A	10	6,23	62,3
B	10	8,2	82
C	10	-	-

Los cromatogramas del método C no presentaron señales claras de presencia de florfenicol, por lo cual se descarta su uso en la validación de la limpieza.

El detalle se muestra en el **Anexo III**.

Por su parte el método B presentó el porcentaje de recuperación más alto de entre los 3 métodos, 82% , que esta catalogado como un porcentaje de recuperación óptimo<sup>13</sup> y a su vez un CV menor al 5%. Por lo cual el método B se eligió para hacer las otras dos pruebas a distintas concentraciones.

## 6.2.2 Determinación del porcentaje de recuperación de concentración 100 y 150 µg/mL

El promedio de las áreas obtenidas, se interpoló en la ecuación de la recta determinada previamente, para el parámetro de linealidad en la validación de la metodología analítica.

Ecuación de la recta:

$$y = 15057x + 3666,5 \quad R^2: 0,9994$$

Donde **x** corresponde a la concentración de florfenicol en ppm (µg/mL) e **y** al área obtenida.

En la tabla N°13 se muestra los resultados obtenidos de los porcentajes de recuperación a concentraciones de 100 y 150 µg/mL

Tabla N° 13: Resultados porcentaje de recuperación a concentraciones de 100 y 150 µg/mL.

Método	µg florfenicol agregados en la placa	µg florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
B 100 µg/mL	100	85,3	85,3
B 150 µg/mL:	150	125,4	83,6

A continuación (tabla N°14), se muestra el resumen de los datos obtenidos para las tres concentraciones utilizadas en el método B de hisopado.

Tabla N°14: Resumen porcentaje de recuperación obtenido método hisopado B.

Concentración	% Recuperación	Promedio	SD	CV%
10 µg/mL	82	84	1,65	1,98
100 µg/mL	85,3			
150 µg/mL	83,5			

Por lo tanto el método B cumple con todos los requisitos para ser el método ideal de hisopado, presentando un promedio de 84% como porcentaje de recuperación.

Además se evaluó a través de un blanco, si la tórula podría presentar interferencia en la medición de florfenicol<sup>18</sup>. Los resultados obtenidos muestran que el material de la tórula presenta dos *peak*, el primero a los 0,7 minutos y el segundo a los 1,7 minutos, no afectando la medición de florfenicol (*peak* 4,36 minutos aproximadamente).

Los detalles del cálculo del porcentaje de recuperación, se encuentran disponible en el **ANEXO II**.

### 6.3 Validación de limpieza línea central de producción

#### 6.3.1 Determinación del “peor caso”.

En la tabla N°15, se detalla la ponderación obtenida por los productos y su puntaje final para la determinación del peor caso.

Tabla N°15: Ponderación de cada productos y puntaje total.

<i>Producto</i>	<i>Pond % p.a</i>	<i>Pond. Toxi-cidad</i>	<i>Pond. Solu-bilidad</i>	<i>Pond. Tamaño / lote</i>	<i>Pond. Lotes /Año</i>	<i>Pond. Uni-dad /Año</i>	<i>Pond. Dificul-tad limpieza</i>	<i>Total</i>
<b>Duflosan 50%</b>	4	3	4	5	5	5	3	29
<b>Duflosan 20</b>	2	3	4	5	4	4	3	25
<b>Terrivet 80%</b>	4	3	3	4	3	1	4	22
<b>Tiganil 450</b>	3	3	4	4	2	3	3	22
<b>LevanteL 46%</b>	3	4	4	5	1	1	3	21
<b>Flox-Feed 80%</b>	4	3	4	5	1	1	3	21
<b>LevanteL 5%</b>	1	4	4	5	1	1	3	19
<b>OTC 65%</b>	4	2	2	5	1	1	4	19
<b>Nicarbazin a 25%</b>	2	2	5	5	1	1	3	19
<b>Piperazina</b>	5	2	2	5	1	1	3	19
<b>Licimocin 44</b>	1	3	4	5	1	1	3	18
<b>Terrivet 100</b>	1	3	3	5	1	1	4	18
<b>Tiganil 100</b>	1	3	4	4	2	1	3	18
<b>Plocin</b>	1	2	5	5	1	1	3	18
<b>Bactilina 100</b>	1	2	5	5	1	1	3	18
<b>Neumoton a 50%</b>	3	1	4	5	1	1	3	18
<b>Costin Solución</b>	3	2	4	3	1	2	3	18
<b>Coccisan</b>	1	1	5	5	1	1	3	17
<b>Costin Mix 20</b>	2	2	4	3	2	1	3	17

Los productos se fabrican en diferentes presentaciones, por lo cual, para el análisis de riesgo se consideró el lote de mayor tamaño para cada producto.

Para la elección del peor caso, se consideró aquellos productos que fueron fabricados desde enero del 2014 a agosto del 2015. Como resultado del análisis de riesgo, se obtuvo que el producto con mayor ponderación correspondió a florfenicol (Duflosan® 50%).

Se decidió utilizar como parámetro para el análisis de riesgo el porcentaje de principio activo de cada producto veterinario ( a mayor concentración, mayor posibilidad de dejar residuos en el equipo) y excluir la dosis terapéutica mínima, debido a la farmacocinética específica de cada especie ( gallinas, caballos, cerdos, peces, etc) , por lo cual, no existe una comparación significativa ni relevante de análisis. Los otros parámetros incluidos corresponden a los utilizados comunmente (solubilidad en agua, tamaño del lote, número de lotes/año, unidades/año, dificultad de limpieza y toxicidad).

La elección de Duflosan® 50%, como producto trazador, fue determinada por la cantidad de lotes que se fabrican , siendo este producido con mayor periodicidad (aproximadamente el doble de lotes que el producto que le sigue en fabricación), demostrando que existe un alto riesgo de acumulación en el tiempo y de generar contaminación cruzada hacia los otros productos de menor frecuencia de fabricación.

No obstante, este producto no presenta dificultad de limpieza en comparación a Terrivet® 80% (principio activo Oxitetraciclina), producto amarillento de difícil eliminación. Dado que su producción decayó en el último período, no presenta gran probabilidad de acumulación en el equipo ni viabilidad para realizar una validación en conjunto con Duflosan® 50% (proyecto original de validación). Por otro parte, es posible encontrar otros productos con mayor toxicidad, pero no fueron considerados riesgosos debido a su baja producción y menor porcentaje de principio activo.

Los datos incluidos en el análisis de riesgo se muestran en el **Anexo III**.

### 6.3.2 Determinación de los puntos críticos de limpieza

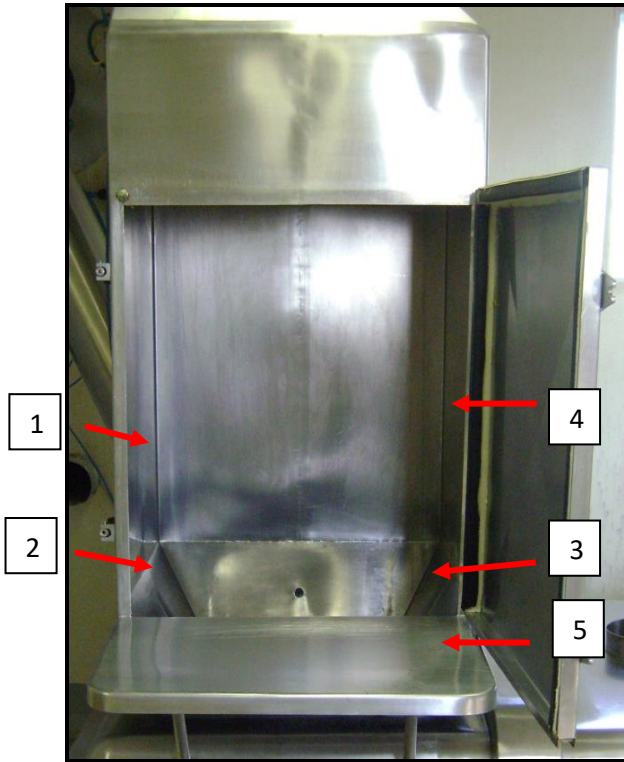
La planta farmacéutica gran volumen está diseñada como una planta de alimentos, por lo cual el equipo de la línea central fue hecho a medida, de tal forma que desde el mezclador hasta la dosificadora se encuentran unidos. Por este motivo, a fin de mejorar el proceso de análisis de los resultados obtenidos en la validación cada pieza del equipo se consideró separadamente, determinandose los límites para cada pieza o parte individualmente (campana de incorporación de principio activo, mezclador central, cernidor-silo, dosificadora).

#### 6.3.2.1 Campana de incorporación de principio activo y mezclador central

En la figura N°3, 4 y 5 se muestra la campana de incorporación del principio activo, su vez en la parte inferior de esta, se conecta la descarga de excipientes, los cuales pasan al mezclador central de 6 paletas, y se les da 5 minutos de mezclado.



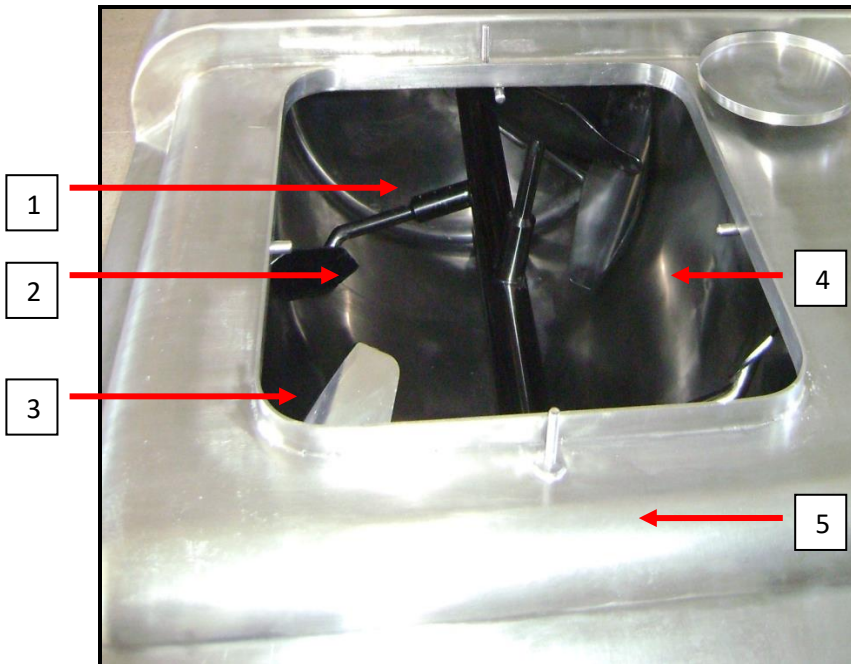
Figura 3: Campana incorporación principio activo y mezclador.



**Campana de incorporación de principio activo.**

- 1.- Pared Campana.
- 2.- Base Campana.
- 3.- Mesa de Apoyo.
- 4.- Pared Campana.
- 5.- Base Campana.

Figura N° 4: Campana de incorporación de principio activo.



**Mezclador Central.**

- 1.- Fondo mezclador.
- 2.- Paleta.
- 3.- Pared mezclador.
- 4.- Pared mezclador.
- 5.- Techo interior.

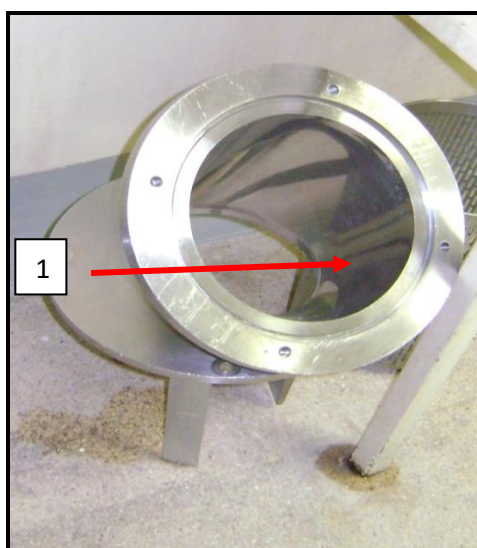
Figura N°5: Mezclador central.

### 6.3.2.2 Cernidor-Silo.

En las figuras N°6, 7 y 8 , se muestran el cernidor y silo. El cernidor corresponde a una estación de paso, donde el producto que ya ha sido mezclado, pasa a través de él para asegurar que no pase producto agrumado o material extraño. El silo corresponde a una estación de almacenaje, en donde el producto espera para pasar a la dosificadora.



Figura N°6: Cernidor- Silo.

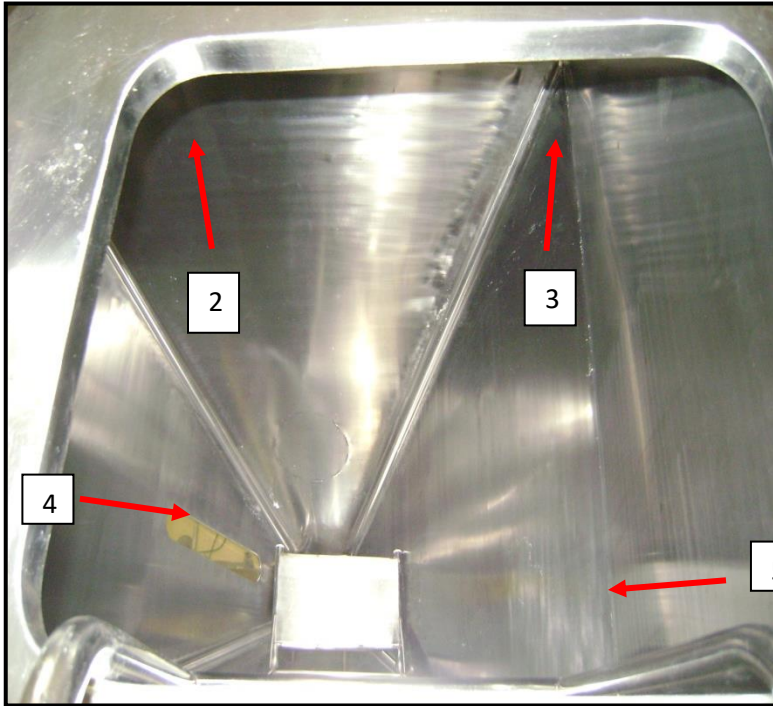


#### Conexión Cernidor

1.- Interior.

Figura N°7: Conexión cernidor.





### Silo

2.- Techo Silo

3.- Techo Silo

4.- Pared Silo

5.- Pared Silo

Figura N°8: Silo.

### 6.3.2.3 Dosificadora

En la figura N°9, se muestra la dosificadora de la línea central.

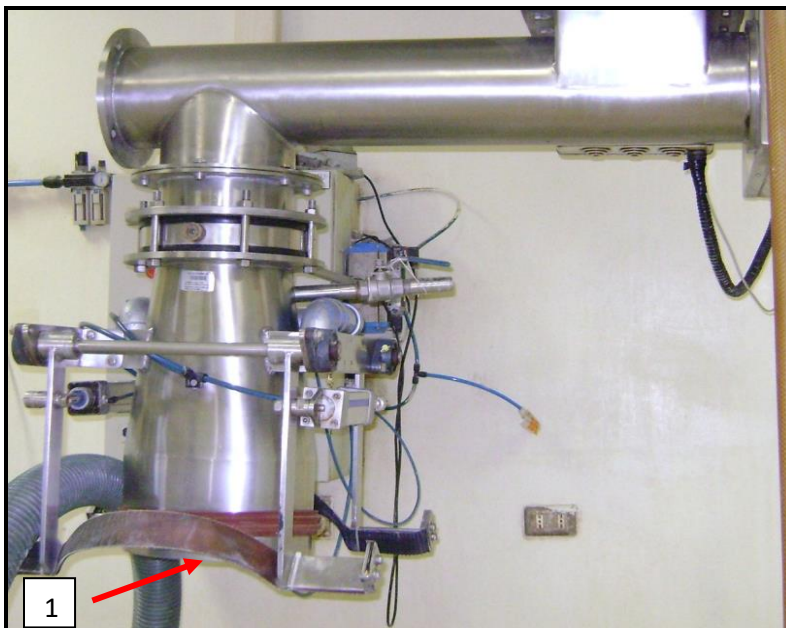


Figura N°9: Dosificadora.

Se consideró la superficie total de cada pieza del equipo a aquella que tiene contacto directo con el producto en fabricación. Cada pieza se ajustó a alguna forma geométrica para facilitar el cálculo de la superficie, siendo estas áreas aproximadas en comparación a lo real. Tanto la distribución como la forma y dimensiones del equipo, hicieron que el proceso de tomas de muestra fuera complejo e imposibilitando la realización de diversas técnicas de muestreo en todas las partes del equipo.

### 6.3.3 Determinación de los límites de limpieza

#### 6.3.3.1 Límites para muestreo por hisopado y solvente de extracción

En la tabla N°16, se muestran los resultados correspondiente a la máxima cantidad de producto anterior en las diferentes partes del equipo. Estos valores corresponden a los límites para muestreo por hisopado y por solvente de extracción. El valor más restrictivo corresponde al límite utilizado en los cálculos siguientes.

Tabla N°16: Resultados cálculo del límite en el producto siguiente (L1).

<b>Cálculo del límite en el producto siguiente (L1): Muestreo por hisopado y solvente de extracción</b>			
<b>Parte del equipo</b>	<b>Criterio visual ppm</b>	<b>Criterio trazas Ppm</b>	<b>Criterio dosis terapéutica ppm</b>
<b>Campana de incorporación p.a</b>	<b>0,24</b>	10	16,53
<b>Mezclador central</b>	<b>1,04</b>	10	16,53
<b>Cernidor-Silo</b>	<b>1,24</b>	10	16,53
<b>Dosificadora</b>	<b>0,083</b>	10	16,53

Los resultados para los límites L2 y L3 a partir de L1 se muestran en la tabla N° 17.

Tabla N°17: Resultados de los límites L2 y L3 para muestreo por hisopado y solvente de extracción.

Límites para muestreo por hisopado y solvente de extracción					
Parte del equipo	L1 ppm	Hisopado		Solvente de extracción	
		L2 µg/cm <sup>2</sup>	L3 µg/mL	L2 µg/mL	L3 µg/mL
Campana de incorporación p.a	0,24	4	8,4	-	-
Mezclador central	1,04	4	8,4	-	-
Cernidor-Silo	1,24	4	8,4	-	-
Dosificadora	0,083	4	8,4	415	17,73

L1:Límite en el producto siguiente, en ppm ( µg de contaminante A que pueden pasar por g de producto siguiente B).

L2:Límite en control de superficie. Para muestreo por hisopado: µg de contaminante A que pueden haber por cada cm<sup>2</sup> de la superficie del equipo que está en contacto con el producto.

Para muestreo por solvente de extracción: µg de contaminante A que pueden haber por cada ml del líquido utilizado en el enjuague de la superficie del equipo en contacto con el producto.

L3:Límite en la muestra analizada en el cromatógrafo HPLC, se expresa en µg/mL.

En la determinación de los límites de aceptación del contaminante trazador se utilizaron los tres criterios clásicos propuestos por la FDA ( visual, de los 10 ppm o de trazas y dosis terapéutica)<sup>19</sup>. Como resultado se obtuvo que el criterio más restrictivo corresponde al criterio visual. Es importante mencionar que las presentaciones farmacéuticas de estos productos veterinarios son sacos de 20 kilogramos, los cuales no corresponden a dosis individuales, por lo cual, al momento de realizar los cálculos del criterio de la dosis terapéutica fue necesario asumir los pesos de las especies involucradas ( salmones y cerdos). La fabricación de estos productos varía según la demanda, por este motivo se eligió como el producto B o el siguiente a fabricar, a aquel producto de menor porcentaje de principio activo y menor tamaño de lote ( Costin Sol<sup>®</sup>). La elección de criterios para establecer límites no se encuentra establecido, esto quiere decir que no es universal, finalmente depende del laboratorio el límite a utilizar. Dentro de los otros posibles criterios se encuentran:

- Límite basado en la toxicidad del residuo: Es útil cuando no se cuenta con la información necesaria para establecer las dosis terapéuticas.
- Límite basado en la sensibilidad del método analítico de determinación del residuo: El límite de limpieza corresponde al límite de detección del método analítico.

- Límite basado en la capacidad del proceso de limpieza: Tiene lugar cuando se dispone de suficientes resultados del control del procedimiento de limpieza dentro de un intervalo inferior al valor calculado del límite<sup>14</sup>.

Por su parte los 10 ppm corresponden a un límite por defecto, el cual es útil cuando no se han establecido otros criterios más adecuados. Cabe señalar que en sí, el límite de 10 ppm no corresponde a un buen indicador de limpieza, ya que es una unidad de concentración y no expresa la cantidad de residuo por unidad de superficie, por consiguiente no puede usar como referencia para hacer comparaciones entre distintos equipos. El uso de un límite de 10 ppm sin caracterización del riesgo de exposición es equivalente a pretender que no hace ninguna diferencia si un medicamento está contaminada por 1 ng (el equivalente a 10 ppm de 0,1 mg) o 50 mcg (el equivalente a 10 ppm de 5000 mg) de la misma sustancia<sup>20</sup>.

Los calculos para la determinación de los límites de limpieza, se detallan en el **Anexo IV**.

#### **6.3.4 Determinación residuos de detergente**

Existen diversos métodos para determinar los residuos de agentes de limpieza, tanto específicos (HPLC) como inespecíficos (Carbono Orgánico Total, TOC y Conductividad). Para realizar las mediciones se escogió el método de conductividad, ya que tiene la capacidad de entregar resultados de forma rápida, lineales y fáciles de manejar (el laborario no contaba con el equipo para realizar el análisis mediante TOC y el análisis mediante HPLC requeriría la validación del método).

La ecuación de la recta obtenida fue la siguiente:

$$y = 3,577x - 3,69 \quad R^2: 0,997$$

La planta farmacéutica gran volumen no contaba con agua purificada, por lo cual, el lavado de esta sólo se realiza con agua potable. A efectos de validación fue necesario enjuagar algunas partes del equipo con agua desionizada, ya que el

agua potable interfiere en la medición de la conductividad. Se sugiere que en el futuro se implemente la utilización de agua purificada en el proceso de lavado para acercarse a las requerimientos exigidos por las GMP.

### 6.3.5 Pruebas para la validación de la limpieza

#### 6.3.5.1 Validación de la limpieza: Inspección visual

En la tabla N° 18, se muestran los resultados obtenidos para cada uno de los puntos críticos del equipo, luego de realizada la inspección visual del mismo. Los tres ciclos de limpieza validados, arrojaron un resultado Conforme.

Tabla N°18 : Resultados inspección visual de los tres ciclos de limpieza.

	Primer muestreo	Segundo muestreo	Tercer Muestreo
Equipo y parte de equipo	Conforme/ No conforme	Conforme/ No conforme	Conforme/ No conforme
<b>Campana incorporación p.a</b>			
Pared izquierda	Conforme	Conforme	Conforme
Base izquierda	Conforme	Conforme	Conforme
Mesa de apoyo	Conforme	Conforme	Conforme
Base derecha	Conforme	Conforme	Conforme
Pared derecha	Conforme	Conforme	Conforme
<b>Mezclador central</b>			
Fondo	Conforme	Conforme	Conforme
Aspa	Conforme	Conforme	Conforme
Pared izquierda	Conforme	Conforme	Conforme
Pared derecha	Conforme	Conforme	Conforme
Techo	Conforme	Conforme	Conforme
<b>Cernidor -Silo</b>			
Unión Cernidor	Conforme	Conforme	Conforme
Techo zona izquierda	Conforme	Conforme	Conforme
Pared izquierda	Conforme	Conforme	Conforme
Techo zona derecha	Conforme	Conforme	Conforme
Pared derecha	Conforme	Conforme	Conforme
<b>Dosificadora</b>			
Boquilla descarga	Conforme	Conforme	Conforme

### 6.3.5.2 Validación de la limpieza: Muestreo por hisopado

Las tablas N° 19, 20 y 21, se muestran los resultados obtenidos mediante la técnica de hisopado. En todos los ciclos validados, se observa que los resultados están bajo los límites establecidos.

Tabla N°19: Resultados primer muestreo por hisopado.

Primer muestreo					
Equipo y parte muestreada	Área	CV%	L1	Con. encontrada ppm	Conforme/ No conforme
<b>Campana incorporación p.a</b>					
Pared izquierda	54899	26,8	<b>0,24</b>	0,11	<b>Conforme</b>
Base izquierda	53894				
Mesa de apoyo	42619				
Base derecha	82539				
Pared derecha	75644				
<b>Mezclador central</b>					
Fondo	166770	94	<b>1,04</b>	0,31	<b>Conforme</b>
Aspa	65302				
Pared izquierda	25976				
Pared derecha	21848				
Techo	32942				
<b>Cernidor-Silo</b>					
Unión Cernidor	78155	57	<b>1,24</b>	0,39	<b>Conforme</b>
Techo zona izquierda	26061				
Pared izquierda	ND				
Techo zona derecha	ND				
Pared derecha	10587				
<b>Dosificadora</b>					
Boquilla descarga	29309	-	<b>0,083</b>	0,016	<b>Conforme</b>

L1: Límite en el producto siguiente, en ppm ( µg de contaminante A que pueden pasar por g de producto siguiente B).

Como resultado del primer muestreo, considerado como exploratorio, se puede concluir que a pesar que el lavado cumple con los límites establecidos, los coeficientes de variación obtenidos, muestran que hay poca homogeneidad del lavado. Por este motivo, se corrigieron ciertos aspectos del lavado: mayor aplicación de espuma y la incorporación de un utensilio (escobillón semicircular) para mejorar la remoción manual de restos de producto y detergente.

A su vez, cada punto de muestreo para los siguientes ciclos fueron aumentados, tomándose muestras en triplicado.

Cabe mencionar que en la literatura consultada no se mencionan los puntos de muestreo mínimos exigidos, por lo cual, estos se establecieron de acuerdo a las dimensiones del equipo y factibilidad de realizar los análisis en el laboratorio de control de calidad, sin afectar su normal funcionamiento.

Tabla N°20: Resultados segundo muestreo por hisopado.

Segundo muestreo					
Equipo y parte muestreada	Área Promedio	CV%	L1	Con. encontrada ppm	Conforme/ No conforme
<b>Campana incorporación p.a</b>					
Pared izquierda	70027	15,1	<b>0,24</b>	0,058	<b>Conforme</b>
Base izquierda	51456				
Mesa de apoyo	47564				
Base derecha	60556				
Pared derecha	58032				
<b>Mezclador central</b>					
Fondo	54555	38,0	1,04	0,21	<b>Conforme</b>
Aspa	48231				
Pared izquierda	36146				
Pared derecha	20530				
Techo	26830				
<b>Cernidor-Silo</b>					
Unión Cernidor	38749	27,0	<b>1,24</b>	0,26	<b>Conforme</b>
Techo zona izquierda	60497				
Pared izquierda	34587				
Techo zona derecha	48733				
Pared derecha	33161				
<b>Dosificadora</b>					
Boquilla descarga	38749	-	<b>0,083</b>	0,017	<b>Conforme</b>

L1: Límite en el producto siguiente, en ppm (  $\mu\text{g}$  de contaminante A que pueden pasar por g de producto siguiente B).

Tabla N°21: Resultados tercer muestreo por hisopado .

Tercer muestreo					
Equipo y parte muestreada	Área promedio	CV%	L1	Con. encontrada ppm	Conforme/ No conforme
<b>Campana incorporación p.a</b>					
Pared izquierda	12095	28,9	<b>0,24</b>	0,04	<b>Conforme</b>
Base izquierda	19699				
Mesa de apoyo	16898				
Base derecha	19913				
Pared derecha	27326				
<b>Mezclador central</b>					
Fondo	46435	32,0	<b>1,04</b>	0,21	<b>Conforme</b>
Aspa	25101				
Pared izquierda	33448				
Pared derecha	29614				
Techo	53371				
<b>Cernidor-Silo</b>					
Unión Cernidor	24716	38,0	<b>1,24</b>	0,24	<b>Conforme</b>
Techo zona izquierda	21178				
Pared izquierda	26931				
Techo zona derecha	42606				
Pared derecha	50423				
<b>Dosificadora</b>					
Boquilla descarga	37536	-	<b>0.083</b>	0,008	<b>Conforme</b>

L1: Límite en el producto siguiente, en ppm (  $\mu\text{g}$  de contaminante A que pueden pasar por g de producto siguiente B).

Los detalles de los datos obtenidos se encuentra en el **Anexo V**.

Los resultados obtenidos para el muestreo de superficies mediante la técnica de hisopado, evidencian una baja precisión, que se manifiesta en coeficientes de variación mayores al 5% (promedio del equipo con mayor CV: 57%). Esto se puede deber a un mezclado poco eficiente, obteniendo lugares con un alto porcentaje de residuos en comparación a otros, también a la gran superficie del equipo y que el número de muestras no sean significativas o a la geometría del equipo que dificulta el proceso de limpieza en ciertas áreas. A pesar de encontrar altos valores de coeficientes de variación en los tres ciclos analizados, cabe destacar que todos los resultados se encuentran por debajo de los límites establecidos y que existe una disminución de aproximadamente el 30% en el CV



entre el primer y el último ciclo. Esto se puede deber a la incorporación de una etapa de limpieza manual en el lavado.

### 6.3.5.3 Validación de la limpieza: Muestreo por solvente de extracción

Los resultados de la medición de las muestras obtenidas con solvente de extracción, para el segundo y tercer muestreo de limpieza se exponen en la tabla N°22. Para ambos ciclos el resultado fue Conforme.

Tabla N°22: Resultado muestreo por solvente de extracción, segundo y tercer muestreo.

Parte	Segundo muestreo				Tercer muestreo			
	Área	Área Prom	L1	Con ppm	Área	Área Prom	L1	Con ppm
<b>Dosificadora</b>								
Correa delantera	443225	333697	<b>0,083</b>	0,03	435890	438390	<b>0,083</b>	0,04
Correa trasera	224170				440897			

L1: Límite en el producto siguiente, se informa en ppm ( $\mu\text{g}$  de contaminante A que pueden pasar por g de producto siguiente B).

Durante el primer muestreo, se intentó llevar a cabo el enjuague de las paletas del mezclador, pero el gasto de solvente fue excesivo y no se pudo recuperar con precisión el solvente, por lo cual, se decidió excluir este punto de muestreo. Por otro lado, debido a la geometría del equipo sólo se pudo muestrear las correas de la dosificadora, ya que ninguna otra parte del equipo cumplía con los requisitos para ser muestreado.

### 6.3.5.4 Validación de la limpieza: Muestreo del agua de enjuague

En las siguientes tablas (N°23, 24, y 25) se exponen los valores de conductividad de cada muestra de agua desionizada de los tres muestreos realizados. En todas las mediciones, la conductividad estaba bajo el límite establecido, correspondiente a 10 ppm.

Tabla N°23: Resultados muestreo del agua de enjuague del primer muestreo.

<b>Primer muestreo</b>				
<b>Parte del equipo</b>	<b>Conductividad μS/cm<sup>2</sup></b>	<b>Concentración ppm</b>	<b>Límite ppm</b>	<b>Conforme/ No Conforme</b>
<b>Blanco</b>	4			
<b>Campana de incorporación p.a</b>				
Pared-Base izquierda	19	6,34	10	<b>Conforme</b>
Mesa de apoyo	22	7,18	10	<b>Conforme</b>
Pared-Base derecha	21	6,90	10	<b>Conforme</b>
<b>Mezclador central</b>				
Paleta 1	14	4,95	10	<b>Conforme</b>
Paleta 2	12	4,39	10	<b>Conforme</b>
Paleta 3	12	4,39	10	<b>Conforme</b>
Paleta 4	17	5,78	10	<b>Conforme</b>
Paleta 5	17	5,78	10	<b>Conforme</b>

Tabla N°24: Resultados muestreo del agua de enjuague del segundo muestreo.

<b>Segundo muestreo</b>				
<b>Parte del equipo</b>	<b>Conductividad μS/cm<sup>2</sup></b>	<b>Concentración ppm</b>	<b>Límite ppm</b>	<b>Conforme/ No Conforme</b>
<b>Blanco</b>	3			
<b>Campana de incorporación p.a</b>				
Pared-Base izquierda	10	3,83	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Mesa de apoyo	9	3,55	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Pared-Base derecha	10	3,83	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
<b>Mezclador central</b>				
Paleta 1	8	3,27	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 2	8	3,27	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 3	8	3,27	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 4	8	3,27	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 5	9	3,55	<b>10</b>	<b>Conforme</b>

Tabla N°25: Resultados muestreo del agua de enjuague del tercer muestreo.

<b>Tercer muestreo</b>				
<b>Parte del equipo</b>	<b>Conductividad μS/cm<sup>2</sup></b>	<b>Concentración ppm</b>	<b>Límite ppm</b>	<b>Conforme/ No Conforme</b>
<b>Blanco</b>	4			
<b>Campana de incorporación p.a</b>				
Pared-Base izquierda	10	3,83	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Mesa de apoyo	10	3,83	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Pared-Base derecha	10	3,83	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
<b>Mezclador central</b>				
Paleta 1	9	3,55	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 2	9	3,55	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 3	9	3,55	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 4	8	3,27	<b>10</b>	<b>Conforme</b>
Paleta 5	9	3,55	<b>10</b>	<b>Conforme</b>

Para la determinación de residuos de detergente también influyó la geometría, pudiendo tomar muestras sólo en el eje central del mezclador y en las paredes de la campana de principio activo, dado que el silo y la dosificadora reciben un enjuague adicional, se entiende que estas dos últimas presentarían conductividades iguales o menores que los puntos muestreados. En el mezclador se muestrearon cinco puntos y en la campana tres, suficientes desde un punto de vista estadístico y representativo de la eficacia de enjuague del equipo completo.

### 6.3.5.5 Validación de la sanitización

La verificación de la sanitización fue realizado mediante análisis microbiológico. Las UFC (Unidades Formadoras de Colonias) encontradas a partir de las muestras de los puntos críticos, se exponen en las tablas N° 26 y 27 Todos los resultados obtenidos se encontraron bajo los límites aceptados.

Tabla N°26: Resultado análisis microbiológico, mesófilos, hongos y levaduras.

Parte del equipo	Primer muestreo		Segundo muestreo		Tercer muestreo		Límite UFC /cm <sup>2</sup>
	Mesófilos UFC	Hongos Y levaduras	Mesófilos UFC	Hongos Y levaduras	Mesófilos UFC	Hongos Y levaduras	
<b>Campana de incorporación p.a</b>							
Mesa	-	-	1	<1	1	<1	<b>25</b>
Pared	-	-	<1	<1	<1	<1	<b>25</b>
Base	-	-	2	<1	1	1	<b>25</b>
<b>Mezclador central</b>							
Fondo	1	<1	<1	<1	<1	1	<b>25</b>
Pared	-	-	<1	<1	<1	<1	<b>25</b>
Techo	-	-	1	<1	<1	1	<b>25</b>
<b>Cernidor-Silo</b>							
Cernidor	-	-	1	<1	1	<1	<b>25</b>
Pared	-	-	<1	<1	<1	<1	<b>25</b>
Techo	1	<1	<1	<1	<1	<1	<b>25</b>
<b>Dosificadora</b>							
Boquilla	<1	<1	<1	<1	<1	1	<b>25</b>
Tubo superior	-	-	<1	<1	<1	<1	<b>25</b>

Tabla N°27: Resultados control microbiológico, *E.coli*, *Salmonella sp.*, *S. Aureus*.

Parte del equipo	Primer muestreo			Segundo muestreo			Tercer muestreo			Lí Mi te
	<i>E. Coli</i>	<i>Salmo-nella Sp.</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Salmo-nella Sp</i>	<i>S. Aureus</i>	<i>E. Coli</i>	<i>Salmo-nella Sp.</i>	<i>S. Aureus</i>	
<b>Campana de incorporación p.a</b>										
Mesa	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Pared	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Base	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
<b>Mezclador central</b>										
Fondo	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Pared	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Techo	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
<b>Cernidor-Silo</b>										
Cernidor	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Pared	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Techo	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
<b>Dosificadora</b>										
Boquilla	A	A	A	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>
Tubo superior	-	-	-	A	A	A	A	A	A	<b>A</b>

*E.coli*: *Escherichia coli*.

*S.aureus*: *Staphylococcus aureus*.

A: Ausencia

Los análisis microbiológicos fueron realizados en un laboratorio de control de calidad externo, el cual daba la implementación y materiales para llevar a cabo los procedimientos, por consiguiente, sólo se llevó a cabo la toma de muestras en el equipo. Sin embargo, el laboratorio no valora *Pseudomona aeruginosa* en superficies, por lo cual queda pendiente, siendo recomendada su determinación en el agua almacenada en IBC.

Los resultados obtenidos para cada contaminante, en los tres muestreos considerados para la validación fueron del estado conforme. En consecuencia, se determinó que el procedimiento de limpieza y sanitización se encuentra validado.

Por último, se dejó un instructivo de toma de muestras para el seguimiento de la validación de limpieza y sanitización, en el cual se especifica la periodicidad, los puntos de muestreo y ante cualquier cambio en los POEs o en los productos de limpieza utilizados será necesario reevaluar la validación.

## **7. CONCLUSIONES**

Se estudiaron tanto las áreas, equipos y utensilios involucrados en el ciclo de fabricación de los productos pertenecientes a la planta Farma Gran Volumen como los procedimientos de mantención y limpieza. De esta forma se determinó los requisitos previos necesarios y exigidos por la normativa vigente para una validación de limpieza en la planta farmacéutica. Además, se estudió la bibliografía disponible sobre el establecimiento de límites de aceptación, y esta se adaptó a la industria farmacéutica veterinaria.

Se revisó y actualizó la documentación (POEs) involucrada en el proceso de limpieza y sanitización de la planta. Se determinaron aspectos críticos, asociados al proceso de limpieza y sanitización, los cuales fueron: elección del peor caso, determinación de los puntos críticos de limpieza y técnicas de análisis microbiológico estableciéndose para cada uno los límites de aceptación.

Se validó la metodología analítica para el principio activo trazador, dando como resultado un análisis sensible y específico para el peor caso.

Se elaboró el protocolo de validación de limpieza y a través de este se logró verificar y comprobar, que los POEs de limpieza y sanitización eliminaron de forma eficaz los residuos del producto peor caso, trazas de detergente y contaminación microbiológica. Todos los resultados obtenidos durante los tres ciclos de limpieza fueron documentados en el informe de validación de limpieza y sanitización.

## 8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. WHO EXPERT COMMITTEE ON SPECIFICATIONS FOR PHARMACEUTICAL PREPARATIONS 32th Report; WHO Technical Report Series N°823; Geneva, Switzerland; 1992.
2. LABORATORIO VETERQUÍMICA. C-I-GEN-028 "Limpieza Planta Farmacológicos Gran Volumen". Enero 2016.
3. HEALTH PRODUCTS AND FOOD BRANCH INSPECTORATE. Guidance Document Cleaning Validation Guidelines, Guide-0028. December 2007. [Documento obtenido en línea] < [http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/compliance/gmp-bpf/validation/gui\\_0028\\_tc-tm-eng.php](http://www.hc-sc.gc.ca/dhp-mps/compliance/gmp-bpf/validation/gui_0028_tc-tm-eng.php) > [Consulta Septiembre 2015].
4. NASSANI M. Cleaning Validation in the Pharmaceutical Industry. 2005 [Documento en línea] <[http://www.ivtnetwork.com/sites/default/files/Cleaning%20Validation%20in%20the%20Pharmaceutical%20Industry\\_0.pdf](http://www.ivtnetwork.com/sites/default/files/Cleaning%20Validation%20in%20the%20Pharmaceutical%20Industry_0.pdf)> [Consulta Septiembre 2015].
5. SALAZAR R. Validación Industrial y su aplicación en la Industria Farmacéutica y Afines. 1ª Edición; p. 373-414; Glatt LaborTecnica; Barcelona; 1999.
6. VETERINARY SUBSTANCES DATABASE. < <http://sitem.herts.ac.uk/aeru/vsdb/index.htm> > [Consulta Agosto-Octubre 2015].



7. LAKSHMANA S. y SURIYAPRAKASH T. 2010. Cleaning Validation and its Importance in Pharmaceutical Industry. *Pharma Times* 42(07): 21-25.
8. LABORATORIO VETERQUÍMICA. L-I-ACA-009 “Determinación de Florfenicol por HPLC”. Febrero 2013.
9. EMA. Guideline on Validation of Analytical procedures: Methodology. December 1998. [Documento obtenido en línea] < [http://www.ema.europa.eu/docs/en\\_GB/document\\_library/Scientific\\_guideline/2009/10/WC500004340.pdf](http://www.ema.europa.eu/docs/en_GB/document_library/Scientific_guideline/2009/10/WC500004340.pdf) > [Consulta Octubre 2015].
10. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (ISP). Norma técnica N°1, Validación de métodos y determinación de la incertidumbre de la medición: “Aspectos generales sobre la validación de métodos”. Diciembre 2010 [Documento obtenido en línea] < <http://www.ispch.cl/content/guia-tecnica-de-validacion-de-metodos-y-determinacion-de-la-incertidumbre-de-la-medicion> > [Consulta Febrero 2015].
11. SANZ E. Validación en la Industria Farmacéutica (III). *Farmaespaña Industrial*. Enero-Febrero 2006 [Documento obtenido en línea] <<http://www.farmaindustrial.com/es/articulos/validaciones-certificaciones-acreditaciones>> [Consulta Septiembre 2015].
12. SANDEEP K. Why the swab matters in Cleaning Validation. December 2010.  
[Documento obtenido en línea] <<https://texwipe.com/products/swabs/technical-articles/why-swab-matters.aspx> > [Consulta: Septiembre 2015].

13. WHO SUPPLEMENTARY TRAINING MODULES. Cleaning Validation: 23-27 de Febrero 2009. 2009. Kampala, Uganda, Who Health Organization.
14. LÓPEZ A y PIERRE R. 2005. Establecimiento del Límite aceptable para el residuo de limpieza en los equipos de producción de la Industria Farmacéutica. Revista Cubana de Farmacia 39(3).
15. ACTIVE PHARMACEUTICAL INGREDIENTS COMMITTEE (APIC). Guidance on aspect of cleaning validation in active pharmaceutical ingredient plants. [Documento en línea] <[http://apic.cefic.org/pub/APIC\\_Cleaning\\_Validation\\_2014.pdf](http://apic.cefic.org/pub/APIC_Cleaning_Validation_2014.pdf)> [Consulta Septiembre 2015].
16. WALSH A. 2011. Cleaning Validation for the 21<sup>st</sup> Century: Acceptance Limits for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs): Part I. Pharmaceutical Engineering 31(04): 74-83.
17. INSTITUTO DE SALUD PÚBLICA DE CHILE (ISP). “Guía de Inspección de Buenas Prácticas de Manufactura (GMP) para la Industria de Productos Farmacéuticos; Capítulo Validación, Anexo 3; Chile; Julio 2010.
18. LÓPEZ A y COLOMÉ H. 2005. Validación de un método y análisis para la cuantificación del haloperidol en residuos de limpieza de los equipos de producción de la industria farmacéutica. CENIC Ciencias Químicas 36(01):15-20.
19. FDA; “Guide to Inspection of Validation of Cleaning Processes”;1993 [en línea]<<http://www.fda.gov/ICECI/Inspections/InspectionGuides/ucm074922.htm>> [Consulta Septiembre 2015].

20. CREVOISER M. 2016. Cleaning Limits-Why the 10-ppm Criterion should be Abandoned. *Pharmaceutical Technology* 40(1): 52-56.

## 9. ANEXOS

### ANEXO I

#### 1. Condiciones cromatográficas metodología analítica

En la tabla N°1 se presenta el detalle de las condiciones cromatográficas utilizadas en la validación del método analítico y en la determinación de producto terminado.

Tabla N° 1: Detalle de las condiciones cromatográficas del método analítico.

Datos Generales	
Fecha de realización	Diciembre 2015.
Estándar	Florfenicol, pureza 99,5%, LOTE: 080M1396.
Analito	Florfenicol.
Matriz	Duflosan 50, polvo oral.
Descripción de la muestra	Validación de Metodología "Determinación de Florfenicol en Producto terminado Duflosan 50, polvo oral "
Rango concentración analito	5 - 15 ppm
Analista(s) ejecutor (es)	Valeria Huerta P.
Método	
Método utilizado	Cromatografía líquida de alta resolución con detector UV
Nombre metodología analítica	L-I-ACA-009 "Determinacion de Florfenicol por HPLC"
Equipos	
Equipo HPLC	LaChrom, L-7100 (bomba),D-7000 (interfase).
Detector	LaChrom, UV L-7400.
Columna cromatográfica	Phenomenex, Kinetex® EVO C18 150 mm x 4,6 mm y 5 µm
Condiciones cromatográficas	
Longitud de onda	225 nm
Flujo	1 mL/minuto
Fase móvil	Acetonitrilo:Agua clase 1 (30:70)
Temperatura horno	30 °C
Volumen de inyección	20 µL
Tiempo de retención	4,3 min aprox.
Tiempo de corrida	6,5 minutos

## 2. Detalles de los cálculos de la validación del método analítico

### 2.1 Determinación de la Especificidad o Selectividad

Los resultados obtenidos tanto para los estándares de florfenicol y para el producto terminado (Duflosan® 50%) se muestran en la siguiente tabla (N°2):

Tabla N°2: Resultados determinación de especificidad.

Estándares							
Soluciones	Concen. (ppm)	Áreas	Promedio áreas	Tiempo retención (minutos)	Promedio Tiempo retención (min.)	DS tiempo retención	DS áreas
Blanco std	0	0	0	Sin peak	N/A	N/A	N/A
Blanco std	0	0		Sin peak			
Blanco std	0	0		Sin peak			
Florfenicol estándar 1	10	156951	157209	4,350	4,35	0,006	230
Florfenicol estándar 2	10	157280		4,350			
Florfenicol estándar 3	10	157395		4,360			
Duflosan 50% polvo oral							
Soluciones	Concen. [ppm]	Áreas	Promedio áreas	Tiempo retención (minutos)	Promedio tiempo de retención (min.)	DS tiempo retención	DS áreas
Blanco PT	0	0	0	Sin peak	N/A	N/A	N/A
Blanco PT	0	0		Sin peak			
Blanco PT	0	0		Sin peak			
PT	10	153016	152839	4,360	4,36	0,000	4153
PT	10	148601		4,360			
PT	10	156901		4,360			

DS: Desviación estándar.

### 2.2 Determinación de la linealidad

#### 2.2.1 Linealidad del sistema

Se realizaron tres curvas de calibración externas en días distintos, a niveles de 5,7,10,12 y 15 µg/mL (ppm) con el propósito de evaluar el comportamiento lineal del sistema. En la Tabla N°3 se presentan los CV y SD de los datos obtenidos en las distintas curvas de calibración. En la Figura N°1 se presentan las curvas de calibración de los 3 días. Mientras que en la tabla N°4, se muestra los parámetros de las tres curvas de calibración.

Tabla N°3: Resultados obtenidos del ensayo de linealidad del sistema para florfenicol.

Concentración	Día 1		Día 2		Día 3	
	SD	CV	SD	CV	SD	CV
5,1	601	0,74	675	0,84	677	0,84
7,2	685	0,60	462	0,41	280	0,23
10,2	566	0,36	554	0,35	743	0,44
12,3	861	0,45	418	0,22	296	0,15
15,4	304	0,13	236	0,10	192	0,08

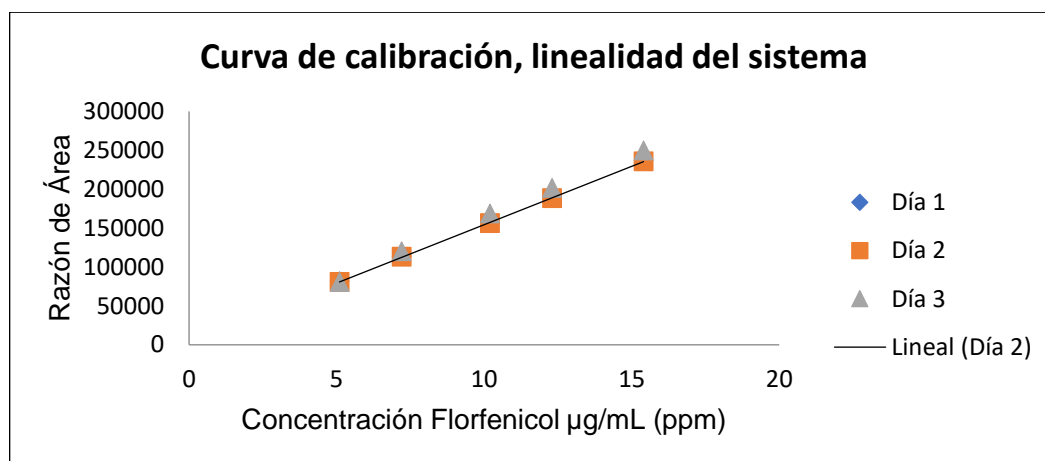


Figura N°1: Curvas Externas de calibración.

Tabla N°4: Parámetros de curvas externas.

Día	Pendiente (m)	Intercepto	r
1	15076	4319	0,99989
2	15047	3805	0,99992
3	16363	356	0,99937

Por otra parte, se realiza la evaluación estadística de prueba t-Student, como un mejor indicador del modelo lineal. Los resultados de esta prueba estadística se presentan en la tabla N°5.

Tabla N°5: Resumen de los datos del análisis estadístico para la prueba t en las curvas externas de florfenicol.

Curva	n	n-2	r	r <sup>2</sup>	t calculado	t tab	Ho
1	5	3	0,99974	0,9995	74,44	3,182	Rechazada
2	5	3	0,99979	0,9996	86,58	3,182	Rechazada
3	5	3	0,99934	0,9987	52,18	3,182	Rechazada

## 2.2.2 Linealidad del método

En la tabla N°6 se muestran los resultados obtenidos para la linealidad del método en concentraciones de 80, 90, 100, 110 y 120% de lo declarado. Los parámetros de la curva de calibración, se muestran en la tabla N°7 y en la figura N°2 se presenta el gráfico de la curva de calibración.

Tabla N°6: Resumen de los resultados curva de calibración.

% Producto Terminado	Concentración Teórica	Concentración experimental	% de Recuperación	Rango de Recuperación Aceptado
80	8,03	8,39	104	95%-105%
90	9,00	9,20	102	
100	10,02	10,03	100	
110	11,02	11,25	102	
120	12,00	12,26	102	

Tabla N°7: Parámetros de curva de calibración producto terminado.

Día	Pendiente (m)	Intercepto	r
1	14847	9970	0,9935

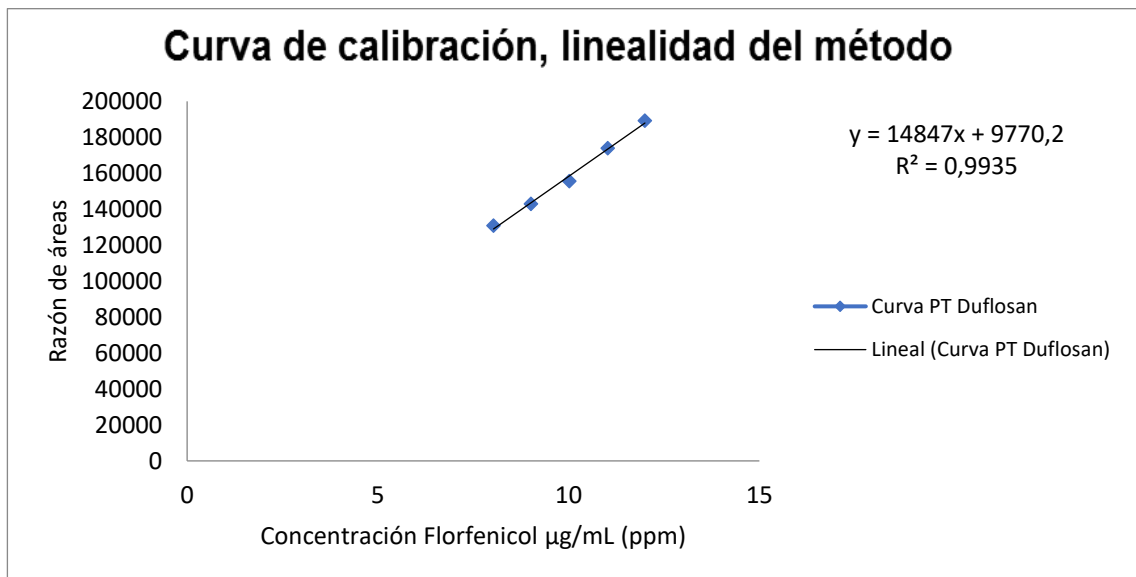


Figura N°2: Curva calibración Producto Terminado.

## 2.3 Determinación exactitud

### 2.3.1 Veracidad

En la tabla N°8 se presenta el porcentaje de recuperación desde los sets de muestras analizadas con 80%, 100% y 120% de la concentración estimada del analito. Y en la tabla N°9, los resultados del análisis estadístico t-Student.

Tabla N°8: Resultados de ensayo de exactitud para florfenicol.

% Teórico	% Recuperación			Promedio	SD	CV%
80	98	96	104	99	0,35	4,35
100	101	97	102	100	0,26	2,61
120	102,9	103,1	102,5	102,8	0,04	0,32

Tabla N°9: Resultado Prueba t Student para veracidad.

Porcentaje de Recuperación media n:9	Desviación Estándar SD	Coefficiente de Variación CV%	t calculado	t Tabla	tcal < t tabla
100,4	3,04	3,02	0,044	2,306	Si

## 2.4 Determinación precisión

### 2.4.1 Repetibilidad

En la tabla N°10 se muestran los resultados de repetibilidad de las muestras analizadas.

Tabla N°10: Resultados concentración de florfenicol en las muestras

Lectura	Concentración Obtenida µg/mL	CV%
1	9,78	1,5
2	9,58	
3	9,89	
4	9,77	
5	9,98	
6	9,92	
7	10,16	
8	9,81	
9	9,86	
10	9,78	



### 2.4.2 Precisión intermedia

Para su determinación, se estudiará las concentraciones de las 20 muestras de florfenicol en producto terminado. En la tabla N° 11, se detalla las concentraciones obtenidas para las 10 muestras obtenidas, en una fecha distinta que las otras 10 utilizadas para la repetibilidad.

Tabla N°11: Resultados concentración de florfenicol en las muestras y coeficiente de variación CV%.

Lectura	Concentración Obtenida µg/mL	CV%
1	10,0	3,29
2	10,1	
3	9,6	
4	9,7	
5	10,0	
6	10,5	
7	10,5	
8	10,1	
9	10,5	
10	10,0	

En la tabla N° 12, se muestra el resumen de las 20 muestras obtenidas intersemana.

Tabla N°12: Resultados promedio, desviación estándar, coeficiente de variación

Promedio concentración (ppm)	Desviación Estándar DS Intersemana	Coeficiente de Variación CV% Intersemana
99,3	2,84	2,86

### 2.4.3 Determinación límites de detección y cuantificación

Los datos para los cálculos de los límites de detección y cuantificación, se muestran en la siguiente tabla (N°13):

Tabla N°13: Resultados de Límites para 10 muestras de producto terminado.

Muestra	Conc teórica [ppm]	Conc. exp Duflosan [ppm]	Promedio	% R	% CV	%CV Aceptado	Rango aceptación Recuperación [%]
1	0,501	0,5	0,48	95	1,3	≤5	95-105
2	0,503	0,48					
3	0,503	0,49					
4	0,504	0,48					
5	0,504	0,48					
6	0,502	0,48					
7	0,502	0,47					
8	0,504	0,47					
9	0,502	0,47					
10	0,501	0,47					

%R: Porcentaje de recuperación de las muestras.

#### 2.4.4 Determinación robustez

La robustez fue medida mediante la variación de flujo. Se analizaron tres muestras a tres flujos distintos (0,95 mL/min; 1,00 mL/min; 1,05 mL/min), los resultados obtenidos se muestran a continuación (tabla N° 14):

Tabla N°14: Resultados obtenidos variando las condiciones de flujo.

Flujo	Muestra	Área	Promedio	Tiempo Retención	Promedio	DS Área	DS Tiempo Retención
Flujo 0,95 mL/min	1	169588	169596	4,45	4,46	0,006	298,6
	2	169301		4,46			
	3	169898		4,46			
Flujo 1,00 mL/min	1	165860	166494	4,24	4,24	0,000	766
	2	166277		4,24			
	3	167346		4,24			
Flujo 1,05 mL/min	1	157614	158122	4,04	4,04	0,006	511
	2	158116		4,04			
	3	158635		4,03			

## ANEXO II

### 1. Determinación del porcentaje de recuperación.

En las siguientes tablas (N°1,2,3,4 y 5), se muestran los detalles de los cálculos obtenidos, para determinación el porcentaje de recuperación de la técnica de hisopado.

#### Método A 10 µg/mL:

Tabla N°1: Resultado porcentaje de recuperación para el método A.

Área	Promedio	SD	CV%	µg Florfenicol agregados en la placa	µg Florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
10696	9813	1365,1	13,9	10	6,23	62,3
10503						
8241						

#### Método B 10 µg/mL:

Tabla N°2: Resultado porcentaje de recuperación para el método B.

Área	Promedio	SD	CV%	µg Florfenicol agregados en la placa	µg Florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
13050	12931	599,87	4,64	10	8,2	82
12281						
13463						

#### Método C 10 µg/mL:

Tabla N°3: Resultado porcentaje de recuperación para el método C.

Área	Promedio	SD	CV%	µg Florfenicol agregados en la placa	µg Florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
ND	-	-	-	-	-	-
ND						
ND						

ND: No detectado.

### Método B 100 µg/mL:

Tabla N°4: Resultado porcentaje de recuperación para el método B.

Área	Promedio	SD	CV%	µg Florfenicol agregados en la placa	µg Florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
129416	132062	3897,5	2,95	100	85,3	85,3
130233						
136538						

### Método B 150 µg/mL:

Tabla N°5: Resultado porcentaje de recuperación para el método B.

Área	Promedio	SD	CV%	µg Florfenicol agregados en la placa	µg Florfenicol encontrados en la placa	% Recuperación
192375	192431	118,4	0,062	150	125,4	83,6
192567						
192351						

## ANEXO III

### 1. Determinación del “peor caso”

En la siguiente tabla (N°1), se detalla el análisis de riesgo y los parámetros incluidos.

Tabla N°1: Análisis de riesgo y parámetros incluidos

Nombre	Principio Activo	% p.a	Sol. (mg/L)	Tox. (mg/kg)	Tam. Lote (Kg)	N° de lotes/Año	Unid. Año (kg)	Difi. Limp.
Amox-Feed 50%	Amoxicilina Trihidrato	50	4000	>15000 0	1000	0	0	N
Bactilina 100	Tilosina Fosfato	10	5	6200	1000	6	223	N
Costin Mix 20	Colistina sulfato	2	5640	>5450	500	50	2.500	N
Costin Mix 200	Colistina sulfato	20	5640	>5450	800	0	0	N
Eritrofeed 80%	Eritromicina Tiocianato	80	Ligera-mente soluble	>4600	1000	0	0	N
Licimocin 44	Lincomicina Clorhidrato	4,4	927	>4000	1000	30	1.500	N
Neumotona 50%	Amoxicilina Trihidrato	50	4000	>15000	1000	4	1.196	N
Oxitetraciclina Clorhidrato 65,5%	Oxitetraciclina Clorhidrato	65,5	100000 0	>7200	1000	1	200	D
Terrivet 100	Oxitetraciclina Dihidrato	10	31400	>4800	1000	40	2.000	D
Terrivet 50%	Oxitetraciclina dihidrato	50	31400	>4800	800	0	0	D
Terrivet 80%	Oxitetraciclina dihidrato	80	31400	>4800	800	105	4.925	D
Tiganil 100	Tiamulina fumarato Hidrogeno	10	70000	2230	800	58	3.265	N
Tiganil 450	Tiamulina fumarato Hidrogeno	45	70000	2230	800	59	11.859	N
Bandrol 50%	Ácido oxolínico	50	3,2	>525	1000	0	0	N
Bandrol 80%	Ácido oxolínico	80	3,2	>525	1000	0	0	N
Coccisan	Clopidol-Etopabato	20-1,6	10	18000	1000	35	2.800	N
Daclor 80%	Cloramina T	80	150000	935	1000	0	0	N
Duflosan 20	Florfenicol	2	1320	>2000-5000	1000	214	10.693	N

<b>Duflosan 50%</b>	Florfenicol	50	1320	>2000-5000	1000	395	21.650	N
<b>Flox-Feed 50%</b>	Flumequina	50	2190	>2000	1000	0	0	N
<b>Flox -Feed 80%</b>	Flumequina	80	2190	>2000	1000	3	150	N
<b>LevanteL 46%</b>	Levamisol	46	1120	180-480	1000	6	277	N
<b>LevanteL Polvo 5%</b>	Levamisol	5	1120	180-480	1000	8	976	N
<b>Nicarbazina 25%</b>	Nicarbazina	25	0,52	>10000	1000	13	509	N
<b>Piperazina Diclorhidrato</b>	Piperazina Diclorhidrato	100	150000	>5000	1000	10	1.033	N
<b>Plocin 4%</b>	Fenbendazol	4	0,01	>10000	1000	12	638	N
<b>Sulfametazina</b>	Sulfametazina Sódica	100	1500	1165	1000	0	0	N
<b>Costin Solución</b>	Colistina sulfato	50	5640	5450	500	5	5.000	N

Sol: Solubilidad mg/L.

Tox: Toxicidad mg/kg.

Tam. Lote: Tamaño lote kg.

Unid. Año: Unidades Año.

Difi. Limp. : Dificultad de limpieza

N: Normal.

D: Díficil.

## 2. Cromatogramas porcentaje de recuperación método C.

En los siguientes cromatogramas se muestra el resultado para el método de hisopado C.

En los tres cromatogramas no se observa un *peak* definido sin una línea base estable.



VETERQUIMICA S.A.

Determinación de Florfenicol en procesos de limpieza productiva

Analyzed: 16/11/15 21:34

Reported: 17/11/15 19:01

Processed: 17/11/15 19:00

Processing Method: Florfenicol Superficies

Application: Triclabendazol

Series:0666

Sample Name: METODO C3

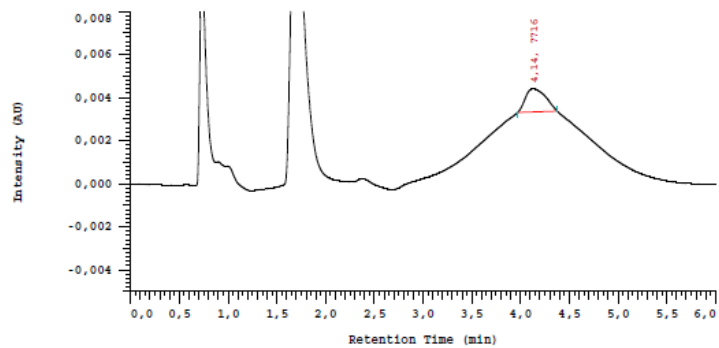
Vial Number: 19

Injection from this vial: 1 of 1

Vial Type: UNK

Volume: 20,0 ul

Chrom Type: HPLC Channel : 1



Name	RT	Area
FLORFENICOL	4,14	7716
		7716

Peak rejection level: 0





## ANEXO IV

### 1. Determinación límites de limpieza

En las siguientes fórmulas se detalla los cálculos utilizados para calcular los límites de limpieza en las diferentes partes del equipo.

#### Campana de incorporación de principio activo.

- Cálculo del límite en el producto siguiente (L1).

Criterio Visual:

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (g)}}$$
$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{30225 \text{ (cm}^2\text{)}}{500000 \text{ (g)}} = \mathbf{0,24 \text{ ppm}}$$

Criterio de Trazas:

$$\frac{10 \mu\text{g de principio activo A}}{1 \text{ g de Producto B}} = \mathbf{10 \text{ ppm}}$$

Criterio Dosis Terapéutica:

$$\frac{1}{1000} \times \frac{\text{Dosis diaria mínima principio activo A (}\mu\text{gA/día)}}{\text{Dosis diaria Máxima producto B (gB/día)}}$$
$$\frac{1}{1000} \times \frac{10000 \text{ (}\mu\text{g/día)}}{0,605 \text{ (g/día)}} = \mathbf{16,53 \text{ ppm}}$$

El valor más restrictivo corresponde al criterio visual, siendo el valor límite 0,24 ppm.

- Cálculo del límite en control de superficie (L2). Muestras de hisopado en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{\text{Tamaño lote mínimo del producto B (g)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}$$

$$L2 = 0,24 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{500000 \text{ (g)}}{30225 \text{ (cm}^2\text{)}} = \mathbf{4 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2}}$$

- Cálculo del límite en la muestra analizada (L3) Muestras de hisopado en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreado (cm}^2\text{)}}{\text{Volumen del líquido de extracción mL}} \times \text{FR}$$

$$L3 = 4 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{25 \text{ (cm}^2\text{)}}{10 \text{ mL}} \times 0,84 = \frac{8,4 \mu\text{g}}{\text{mL}} = \mathbf{8,4 \text{ ppm}}$$

### Mezclador central

- Cálculo del límite en el producto siguiente (L1).

Criterio Visual:

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (g)}}$$
$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{130.072 \text{ (cm}^2\text{)}}{500000 \text{ (g)}} = \mathbf{1,04 \text{ ppm}}$$

Criterio de Trazas:

$$\frac{10 \mu\text{g de principio activo A}}{1 \text{ g de Producto B}} = \mathbf{10 \text{ ppm}}$$

Criterio Dosis Terapéutica:

$$\frac{1}{1000} \times \frac{\text{Dosis diaria mínima principio activo A (}\mu\text{gA/día)}}{\text{Dosis diaria Máxima producto B (gB/día)}}$$
$$\frac{1}{1000} \times \frac{10000 \text{ (}\mu\text{g/día)}}{0,605 \text{ (g/día)}} = \mathbf{16,53 \text{ ppm}}$$

El valor más restrictivo corresponde al criterio visual, siendo el valor límite 1,04 ppm.

- Calculo del límite en control de superficie (L2). Para muestras obtenidas por hisopado en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{\text{Tamaño lote mínimo del producto B (g)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}$$

$$L2 = 0,204 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{500000 \text{ (g)}}{25610 \text{ (cm}^2\text{)}} = \mathbf{4 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2}}$$

- Calculo del límite en la muestra analizada (L3). Para muestras obtenidas por hisopado en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreado (cm}^2\text{)}}{\text{Volumen del líquido de extracción mL}} \times \text{FR}$$

$$L3 = 4 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{25 \text{ (cm}^2\text{)}}{10 \text{ mL}} \times 0,84 = \frac{8,4 \mu\text{g}}{\text{mL}} = \mathbf{8,4 \text{ ppm}}$$

### Cernidor-Silo

- Cálculo del límite en el producto siguiente (L1) .

Criterio Visual:

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (g)}}$$

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{155128 \text{ (cm}^2\text{)}}{500000 \text{ (g)}} = \mathbf{1,24 \text{ ppm}}$$

Criterio de Trazas:

$$\frac{10 \mu\text{g de principio activo A}}{1 \text{ g de Producto B}} = \mathbf{10 \text{ ppm}}$$

Criterio Dosis Terapéutica:

$$\frac{1}{1000} \times \frac{\text{Dosis diaria mínima principio activo A (}\mu\text{gA/día)}}{\text{Dosis diaria Máxima producto B(gB/día)}}$$

$$\frac{1}{1000} \times \frac{10000 \text{ (}\mu\text{g/día)}}{0,605 \text{ (g/día)}} = \mathbf{16,53 \text{ ppm}}$$

El valor más restrictivo corresponde al criterio visual, siendo el valor límite 1,24 ppm.

Calculo del límite en control de superficie (L2). Muestras por hisopado en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{\text{Tamaño lote mínimo del producto B (g)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}} \\ L2 = 1,24 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{500000 \text{ (g)}}{155128 \text{ (cm}^2\text{)}} = 4 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2}$$

- Calculo del límite en la muestra analizada (L3). Muestras por hisopado en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreado (cm}^2\text{)}}{\text{Volumen del líquido de extracción mL}} \times \text{FR} \\ L3 = 4 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{25 \text{ (cm}^2\text{)}}{10 \text{ mL}} \times 0,84 = \frac{8,4 \mu\text{g}}{\text{mL}} = \mathbf{8,4 \text{ ppm}}$$

### Dosificadora.

- Cálculo del límite en el producto siguiente (L1) .

Criterio Visual:

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}{\text{Tamaño de lote mínimo del producto B (g)}}$$

$$\frac{4\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \times \frac{10416 \text{ (cm}^2\text{)}}{500000 \text{ (g)}} = \mathbf{0,083 \text{ ppm}}$$

Criterio de Trazas:

$$\frac{10 \mu\text{g de principio activo A}}{1 \text{ g de Producto B}} = \mathbf{10 \text{ ppm}}$$

Criterio Dosis Terapéutica:

$$\frac{1}{1000} \times \frac{\text{Dosis diaria mínima principio activo A (}\mu\text{gA/día)}}{\text{Dosis diaria Máxima producto B(gB/día)}}$$

$$\frac{1}{1000} \times \frac{10000 \text{ (}\mu\text{g/día)}}{0,605 \text{ (g/día)}} = \mathbf{16,53 \text{ ppm}}$$

El valor más restrictivo corresponde al criterio visual, siendo el valor límite 0,083 ppm.



- Calculo del límite en control de superficie y liquido de enjuague (L2).

1. Para muestras obtenidas por hisopado en  $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ .

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{\text{Tamaño lote mínimo del producto B (g)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto (cm}^2\text{)}}$$

$$L2 = 0,083 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{500000 \text{ (g)}}{25610 \text{ (cm}^2\text{)}} = \mathbf{4 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2}}$$

2. Para muestras obtenidas por enjuague en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

$$L2 = L1 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{\text{Tamaño lote mínimo del producto B (g)}}{\text{Volumen del líquido de enjuague en mL}}$$

$$L2 = 0,083 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} \right) \times \frac{500000 \text{ (g)}}{100 \text{ (mL)}} = \mathbf{415 \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}}}$$

- Calculo del límite en la muestra analizada (L3).

1. Para muestras obtenidas por hisopado en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreado (cm}^2\text{)}}{\text{Volumen del líquido de extracción mL}} \times \text{FR}$$

$$L3 = 4 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) \times \frac{25 \text{ (cm}^2\text{)}}{10 \text{ mL}} \times 0,84 = \frac{8,4 \mu\text{g}}{\text{mL}} = \mathbf{8,4 \text{ pp}}$$

2. Para muestras obtenidas por enjuague en  $\mu\text{g}/\text{mL}$ .

$$L3 = L2 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{\text{Superficie del equipo muestreada por enjuague (cm}^2\text{)}}{\text{Superficie del equipo en contacto con el producto cm}^2\text{}}$$

$$L3 = 415 \left( \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} \right) \times \frac{445 \text{ (cm}^2\text{)}}{10416 \text{ cm}^2} = \frac{\mu\text{g}}{\text{mL}} = \mathbf{17,73 \text{ ppm}}$$

## ANEXO V

### 1. Prueba para la validación de la limpieza

En las siguientes tablas, se muestra el detalle de los datos obtenidos en los tres ciclos o muestreos de limpieza

#### 1.1 Ciclo 1

##### Verificación de Limpieza: muestreo por hisopado.

Desde la Tabla N° 1 hasta la N° 8, se muestran los resultados obtenidos del análisis de las muestras de hisopado para todas las partes del equipo. Cada resultado estuvo bajo los límites establecidos.

- **Campana de Principio Activo.**

Tabla N°1: Resultados muestreo por Hisopado, Campana de Principio Activo.

Zona	Punto Crítico	Promedio	Área Promedio	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
<b>Campana Principio Activo</b>	1	54899	61919	26,8	3,82	1,819	0,110
	2	53894					
	3	42619					
	4	82539					
	5	75644					

Tabla N°2: Comparación entre resultados y valores límites, Campana de Principio Activo.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
3,82	<b>8,4</b>	1,819	<b>4</b>	0,110	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>

- **Mezclador Central.**

Tabla N°3: Resultados muestreo por Hisopado, Mezclador Central.

Zona	Punto Crítico	Área	Promedio	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
<b>Mezclador Central</b>	1	166770	42484	94	2,53	1,206	0,3136
	2	65302					
	3	25976					
	4	21848					
	5	32942					

Tabla N°4: Comparación entre resultados y valores limites, Mezclador Central.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
2,53	<b>8,4</b>	1,21	4	0,31	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>

- **Cernidor- Silo.**

Tabla N°5: Resultados muestreo por Hisopado, Cernidor-Silo.

Zona	Punto Crítico	Área	Área Promedio	CV %	Resultado $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm
<b>Cernidor-Silo</b>	1	78155	43560	57	2,60	1,24	0,39
	2	-					
	3	-					
	4	21848					
	5	10587					

Tabla N°6: Comparación entre resultados y valores limites, Cernidor-Silo.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
2,60	<b>8,4</b>	1,24	4	0,39	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>

- **Dosificadora.**

Tabla N°7: Resultados muestreo por Hisopado, Dosificadora.

Zona	Punto Crítico	Área	Resultado $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm
<b>Dosificadora</b>	1	29309	1,66	0,79	0,016

Tabla N°8: Comparación entre resultados y valores limites, Dosificadora.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,66	<b>8,4</b>	0,79	4	0,016	<b>0,083</b>	<b>Conforme</b>

**L1:** Límite en el siguiente producto, en ppm ( $\mu\text{g}$  de contaminante A que puede pasar por g de producto siguiente B).

**L2:** Límite en control de superficie,  $\mu\text{g}$  de contaminante A que puede haber por cada  $\text{cm}^2$  de la superficie del equipo que está en contacto con el producto.

**L3:** Límite en la muestra analizada en el cromatógrafo HPLC, se expresa en concentración de  $\text{mg/mL}$ .

### Verificación de Limpieza: muestreo aguas de enjuague

En la Tabla N° 9, se exponen los valores de conductividad para las muestras de agua desionizada. Todas las muestras presentan conductividad bajo los límites establecidos.

Tabla N°9: Resultados muestreo agua último enjuague.

Zona	Muestra	Conductividad $\mu\text{S/cm}$	Promedio	CV%	ppm	Límite ppm	Conforme/ No Conforme
Campana Principio Activo	A	19	20,7	7,4	6,81	10	<b>Conforme</b>
	B	22					
	C	21					
Mezclador Central	A	14	14,4	17,4	5,06	10	<b>Conforme</b>
	B	12					
	C	12					
	D	17					
	E	17					

## 1.2 Ciclo 2

### Verificación de Limpieza: Muestreo por Hisopado.

Desde la Tabla N° 10 hasta la N° 23, se muestran los resultados obtenidos del análisis de las muestras de hisopado para todas las partes del equipo. Cada resultado estuvo bajo los límites establecidos.

- **Campana de incorporación de principio activo**

Tabla N°10: Resultados por punto crítico, muestreo por hisopado, campana de principio activo.

Punto	Zona	Área	Promedio Area	CV %	Resultado $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado o ppm
1	1A	91417	70027	39,1	2,25	1,070	0,065
	1B	39137					
	1C	79528					
2	2A	55813	51456	11,3	1,92	0,915	0,055
	2B	44843					
	2C	53711					
3	3A	39067	47564	32,1	1,85	0,883	0,053
	3B	38445					
	3C	65181					
4	4A	93595	60556	47,3	2,08	0,991	0,060
	4B	43362					
	4C	44712					
5	5A	74023	58032	27,1	2,04	0,970	0,059
	5B	57461					
	5C	42611					

Tabla N°11: Comparación entre resultados y valores límites, campana de incorporación de principio activo.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
2,25	<b>8,4</b>	1,070	<b>4</b>	0,065	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
1,92	<b>8,4</b>	0,915	<b>4</b>	0,055	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
1,85	<b>8,4</b>	0,883	<b>4</b>	0,053	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
2,08	<b>8,4</b>	0,991	<b>4</b>	0,060	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
2,04	<b>8,4</b>	0,970	<b>4</b>	0,059	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>

Tabla N°12: Resultado campana de incorporación de principio activo, muestreo por hisopado.

Zona	Punto Muestreado	Promedio Área	Área Promedio	CV %
<b>Campana Principio Activo</b>	1	70027	57527	15,09
	2	51456		
	3	47564		
	4	60556		
	5	58032		

Tabla N°13: Comparación resultado y valor límite para campana de incorporación de principio activo.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
2,03	<b>8,4</b>	0,966	<b>4</b>	0,058	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>

- **Mezclador Central**

Tabla N°14: Resultados por punto crítico, muestreo por hisopado, mezclador central.

Punto	Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
1	1A	94482	54555	64,4	1,98	0,94	0,24
	1B	28360					
	1C	40822					
2	2A	55805	48231	15,1	1,87	0,89	0,23
	2B	41269					
	2C	47619					
3	3A	43245	36146	31,1	1,65	0,79	0,20
	3B	41985					
	3C	23207					
4	4A	19617	20530	14,3	1,38	0,66	0,17
	4B	18151					
	4C	23823					
5	5A	37087	26830	33,4	1,49	0,71	0,18
	5B	22934					
	5C	20468					

Tabla N°15: Comparación entre resultados y valores límites, mezclador central.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,98	<b>8,4</b>	0,94	<b>4</b>	0,24	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>
1,87	<b>8,4</b>	0,89	<b>4</b>	0,23	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>
1,65	<b>8,4</b>	0,79	<b>4</b>	0,20	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>
1,38	<b>8,4</b>	0,66	<b>4</b>	0,17	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>
1,49	<b>8,4</b>	0,71	<b>4</b>	0,18	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>

Tabla N°16: Resultado Mezclador Central , muestreo por Hisopado.

Zona	Punto Muestreado	Promedio Área	Área Promedio	CV %
<b>Mezclador Central</b>	1	54555	37258	38
	2	48231		
	3	36146		
	4	20530		
	5	26830		

Tabla N°17: Comparación resultado y valor límite para Mezclador Central.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,67	<b>8,4</b>	0,80	<b>4</b>	0,21	<b>1,04</b>	<b>Conforme</b>

- **Cernidor-Silo**

Tabla N°18: Resultados por punto crítico, muestreo por hisopado, cernidor-silo.

Punto	Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
1	1A	58813	38749	47,6	1,70	0,81	0,25
	1B	22564					
	1C	34870					
2	2A	28777	60497	50,3	2,08	0,99	0,31
	2B	89472					
	2C	63242					
3	3A	39894	34587	47,4	1,63	0,77	0,24
	3B	47663					
	3C	16203					
4	4A	37305	48733	38,9	1,87	0,89	0,28
	4B	38253					
	4C	70640					
5	5A	30909	33161	6,6	1,60	0,76	0,24
	5B	35301					
	5C	33272					

Tabla N°19: Comparación entre resultados y valores límites, cernidor-silo.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,70	8,4	0,81	4	0,25	1,24	Conforme
2,08	8,4	0,99	4	0,31	1,24	Conforme
1,63	8,4	0,77	4	0,24	1,24	Conforme
1,87	8,4	0,89	4	0,28	1,24	Conforme
1,60	8,4	0,76	4	0,24	1,24	Conforme

Tabla N°20: Resultado cernidor-silo , muestreo por hisopado.

Zona	Punto Muestreado	Promedio Área	Área Promedio	CV %
Cernidor-Silo	1	38749	43145	27
	2	60497		
	3	34587		
	4	48733		
	5	33161		

Tabla N°21: Comparación resultado y valor límite para cernidor-silo.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,77	8,4	0,85	4	0,26	1,24	Conforme



- **Dosificadora**

Tabla N°22: Resultados por punto crítico, muestreo por hisopado, dosificadora.

Punto	Zona	Área	Promedio Area	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
1	1A	58813	38749	47,6	1,70	0,81	0,017
	1B	22564					
	1C	34870					

Tabla N°23: Comparación resultado y valor límite para dosificadora.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,70	<b>8,4</b>	0,81	<b>4</b>	0,017	<b>0,083</b>	<b>Conforme</b>

**L1:** Límite en el siguiente producto, en ppm (µg de contaminante A que puede pasar por g de producto siguiente B).

**L2:** Límite en control de superficie, µg de contaminante A que puede haber por cada cm<sup>2</sup> de la superficie del equipo que está en contacto con el producto.

**L3:** Límite en la muestra analizada en el cromatógrafo HPLC, se expresa en concentración de mg/mL.

### Verificación de Limpieza: muestreo solvente de extracción.

Los valores obtenidos para las muestras con solvente de extracción, se encuentran todas dentro de los límites, por lo tanto, su estado es Conforme. Los resultados se muestran en la Tabla N°24 y N°25.

Tabla N°24: Resultados muestreo con Solvente de Extracción, Dosificadora.

Zona	Área	Promedio Area	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
Correa	443225	333697,5	46,4	6,9	160,3	0,032
Correa	224170					

Tabla N°25: Comparación resultado y valor límite para Dosificadora.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
6,9	<b>17,73</b>	160,3	<b>415</b>	0,032	<b>0,083</b>	<b>Conforme</b>

**L1:** Límite en el siguiente producto, en ppm (µg de contaminante A que puede pasar por g de producto siguiente B).

**L2:** Límite en control del solvente de extracción, µg de contaminante A que pueden haber por cada mL de líquido utilizado en el enjuague de las superficies del equipo en contacto con el producto.

**L3:** Límite en la muestra analizada en el cromatógrafo HPLC, se expresa en concentración de mg/mL

### Verificación de Limpieza: muestreo aguas de enjuague

En la Tabla N° 26, se exponen los valores de conductividad para las muestras de agua desionizada. Todas las muestras presentan conductividad bajo los límites establecidos.

Tabla N°26: Resultados muestreo agua último enjuague.

Zona	Muestra	Conductividad µS/cm	Promedio	CV%	ppm	Límite ppm	Conforme/ No Conforme
Campana Principio Activo	A	10	9,67	5,97	3,73	10	<b>Conforme</b>
	B	9					
	C	10					
Mezclador Central	A	8	8,2	5,45	3,32	10	<b>Conforme</b>
	B	8					
	C	8					
	D	8					
	E	9					

### 1.3 Ciclo 3

#### Verificación de Limpieza: Muestreo por Hisopado.

Desde la Tabla N° 27 hasta la N° 40, se muestran los resultados obtenidos del análisis de las muestras de hisopado para todas las partes del equipo. Cada resultado estuvo bajo los límites establecidos.

- **Campana de incorporación de principio activo**

Tabla N°27: Resultados por punto crítico, muestreo por Hisopado, Campana de Principio Activo.

Punto	Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
1	1A	10917	12095	11,6	0,23	0,108	0,007
	1B	11726					
	1C	13642					
2	2A	12280	19699	36,3	0,39	0,184	0,011
	2B	26548					
	2C	20270					
3	3A	21793	16898	29,5	0,33	0,156	0,009
	3B	11816					
	3C	17084					
4	4A	13697	19913	27	0,39	0,186	0,011
	4B	22865					
	4C	23176					
5	5A	12990	27326	74,2	0,55	0,260	0,016
	5B	ND					
	5C	41662					

\*ND: No Detectado.

Tabla N°28: Comparación entre resultados y valores límites, campana de incorporación de principio activo.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
0,23	<b>8,4</b>	0,108	<b>4</b>	0,007	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
0,39	<b>8,4</b>	0,184	<b>4</b>	0,011	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
0,33	<b>8,4</b>	0,156	<b>4</b>	0,009	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
0,39	<b>8,4</b>	0,186	<b>4</b>	0,011	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>
0,55	<b>8,4</b>	0,260	<b>4</b>	0,016	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>

Tabla N°29: Resultado Campana de incorporación de principio activo, muestreo por Hisopado.

Zona	Punto Muestreado	Promedio Área	Área Promedio	CV %
<b>Campana de incorporación de p.a</b>	1	12095	19186	28,9
	2	19699		
	3	16898		
	4	19913		
	5	27326		

Tabla N°30: Comparación resultado y valor límite para campana de incorporación de principio activo.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,36	<b>8,4</b>	0,647	<b>4</b>	0,04	<b>0,24</b>	<b>Conforme</b>

- **Mezclador Central**

Tabla N°31: Resultados por punto crítico, muestreo por hisopado, mezclador central.

Punto	Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
<b>1</b>	1A	52599	46435	11,5	0,95	0,45	0,12
	1B	43836					
	1C	42910					
<b>2</b>	2A	25736	25101	35,6	0,50	0,24	0,06
	2B	33708					
	2C	15858					
<b>3</b>	3A	19996	33448	56,9	0,68	0,32	0,08
	3B	46900					
	3C	ND					
<b>4</b>	4A	31740	29614	9,33	0,59	0,28	0,07
	4B	30610					
	4C	26492					
<b>5</b>	5A	87216	53371	57	1,09	0,52	0,14
	5B	44516					
	5C	28378					

\*ND: No detectado.

Tabla N°32: Comparación entre resultados y valores límites, mezclador central.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
0,95	8,4	0,45	4	0,12	1,04	Conforme
0,50	8,4	0,24	4	0,06	1,04	Conforme
0,68	8,4	0,32	4	0,08	1,04	Conforme
0,59	8,4	0,28	4	0,07	1,04	Conforme
1,09	8,4	0,52	4	0,14	1,04	Conforme

Tabla N°33: Resultado mezclador central , muestreo por hisopado.

Zona	Punto Muestreado	Promedio Área	Área Promedio	CV %
Mezclador Central	1	46435	37594	32
	2	25101		
	3	33448		
	4	29614		
	5	53371		

Tabla N°34: Comparación resultado y valor límite para mezclador central.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,68	8,4	0,80	4	0,21	1,04	Conforme

- **Cernidor-Silo**

Tabla N°35: Resultados por punto crítico, muestreo por hisopado, cernidor-silo.

Punto	Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm
1	1A	ND	24716	-	0,49	0,23	0,07
	1B	ND					
	1C	24716					
2	2A	20508	21178	4,47	0,42	0,20	0,06
	2B	21848					
	2C	ND					
3	3A	25846	26931	30,70	0,54	0,26	0,08
	3B	35682					
	3C	19266					
4	4A	50902	42606	32,70	0,87	0,41	0,13
	4B	50413					
	4C	26503					
5	5A	26405	50423	96,9	1,03	0,49	0,15
	5B	106637					
	5C	18227					

\*ND: No Detectado.

Tabla N°36: Comparación entre resultados y valores límites, cernidor-silo.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
0,49	<b>8,4</b>	0,23	<b>4</b>	0,07	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>
0,42	<b>8,4</b>	0,20	<b>4</b>	0,06	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>
0,54	<b>8,4</b>	0,26	<b>4</b>	0,08	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>
0,87	<b>8,4</b>	0,41	<b>4</b>	0,13	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>
1,03	<b>8,4</b>	0,49	<b>4</b>	0,15	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>

Tabla N°37: Resultado cernidor-silo, muestreo por hisopado.

Zona	Punto Muestreado	Promedio Área	Área Promedio	CV %
<b>Cernidor-Silo</b>	1	24716	33171	38
	2	21178		
	3	26931		
	4	42606		
	5	50423		

Tabla N°38: Comparación resultado y valor límite para cernidor-silo.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
1,602	<b>8,4</b>	0,76	<b>4</b>	0,24	<b>1,24</b>	<b>Conforme</b>

- **Dosificadora**

Tabla N°39: Resultados por punto crítico, muestreo por Hisopado, Dosificadora.

Punto	Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm
<b>1</b>	1A	43412	37536	14,5	0,76	0,36	0,008
	1B	32668					
	1C	36527					

Tabla N°40: Comparación resultado y valor límite para dosificadora.

Resultado $\mu\text{g/mL}$	L3 $\mu\text{g/mL}$	Resultado $\mu\text{g/cm}^2$	L2 $\mu\text{g/cm}^2$	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
0,76	<b>8,4</b>	0,36	<b>4</b>	0,008	<b>0,083</b>	<b>Conforme</b>

**L1:** Límite en el siguiente producto, en ppm ( $\mu\text{g}$  de contaminante A que puede pasar por g de producto siguiente B).

**L2:** Límite en control de superficie, µg de contaminante A que pueden haber por cada cm<sup>2</sup> de la superficie del equipo que está en contacto con el producto.

**L3:** Límite en la muestra analizada en el cromatógrafo HPLC, se expresa en concentración de mg/mL.

### Verificación de Limpieza: Muestreo Solvente de Extracción.

Los valores obtenidos para las muestras con solvente de extracción, se encuentran todas dentro de los límites, por lo tanto su estado es Conforme. Los resultados se muestran en la Tabla N°41 y N°42.

Tabla N°41: Resultados muestreo con solvente de extracción, dosificadora.

Zona	Área	Promedio Área	CV %	Resultado µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm
Correa	435890	438393,5	0,81	9,2	215,4	0,043
Correa	440897					

Tabla N°42: Comparación resultado y valor límite para dosificadora.

Resultado µg/mL	L3 µg/mL	Resultado µg/cm <sup>2</sup>	L2 µg/cm <sup>2</sup>	Resultado ppm	L1 ppm	Conforme/ No Conforme
9,2	<b>17,73</b>	215,4	<b>415</b>	0,043	<b>0,083</b>	<b>Conforme</b>

**L1:** Límite en el siguiente producto, en ppm (µg de contaminante A que puede pasar por g de producto siguiente B).

**L2:** Límite en control del solvente de extracción, µg de contaminante A que pueden haber por cada mL de líquido utilizado en el enjuague de las superficies del equipo en contacto con el producto.

**L3:** Límite en la muestra analizada en el cromatógrafo HPLC, se expresa en concentración de mg/mL.

### Verificación de Limpieza: Muestreo Aguas de Enjuague.

En la Tabla N° 43, se exponen los valores de conductividad para las muestras de agua desionizada. Todas las muestras presentan conductividad bajo los límites establecidos.

Tabla N°43: Resultados muestreo agua último enjuague.

Zona	Muestra	Conductividad $\mu\text{S/cm}$	Promedio	CV %	ppm	Límite ppm	Conforme/ No Conforme
Campana incorporación p.a	A	10	10	-	3,83	10	<b>Conforme</b>
	B	10					
	C	10					
Mezclador Central	A	9	8,8	5,1	3,48	10	<b>Conforme</b>
	B	9					
	C	9					
	D	8					
	E	9					