



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS Y
BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE INGENIERÍA BIOQUÍMICA

TEMA: Validación del método de limpieza aplicado a la ruta de fabricación de tabletas de matico en el Laboratorio NEOFÁRMACO del Ecuador Cía. Ltda.

Trabajo de titulación, modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previo a la obtención de título de Ingeniera Bioquímica, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autora: Guevara Freire Karen Adriana

Tutora: Quím. Carrera Cevallos Jeanette Verónica

Ambato-Ecuador

Septiembre-2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

Quím. Carrera Cevallos Jeanette Verónica

Certifica:

Que el presente trabajo de titulación ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Trabajo de Titulación modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que responde a las normas establecidas en el reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Ambato, 28 de Julio del 2022.

.....
Quím. Carrera Cevallos Jeanette Verónica

C.I.:1716192271

Tutora

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Karen Adriana Guevara Freire, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Trabajo de Titulación, modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previo a la obtención del título de Ingeniera Bioquímica, son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas.



.....
Karen Adriana Guevara Freire

C.I: 1805287081

AUTORA

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Profesores Calificadores, aprueban el presente Trabajo de titulación, modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firma:

Presidente del Tribunal
Dr. Esteban Mauricio Fuentes Pérez
C.I.1803321502

Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez
C.I. 1801769488

Dra. Fernández Rivero Danae

Ambato, 29 de Agosto del 2022

C.I. 1757181209

DERECHOS DE AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que considere el presente trabajo de Titulación o parte de él, como documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Trabajo de Titulación, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este, dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autora.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'Karen Adriana Guevara Freire', is written over a horizontal dotted line.

Karen Adriana Guevara Freire

C.I.1805287081

AUTORA

DEDICATORIA

Le dedico este trabajo a mis queridos padres, Blanca Freire y Ángel Guevara, quienes, con su cariño, esfuerzo y apoyo incondicional, me han impulsado a alcanzar tan anhelado logro.

A mis hermanos, Christian, Pamela y Ángel, quienes han sido mi ejemplo a lo largo de mi vida,

A toda mi familia,

con mucho cariño,

Karen.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco inmensamente a mis padres, quienes han hecho posible este gran triunfo, gracias por todo el apoyo y comprensión brindados a lo largo de mi vida y carrera universitaria, gracias por todas las enseñanzas, y animarme a perseverar en las situaciones difíciles. Gracias, a mis hermanos por ayudarme ante las dificultades. Agradezco a Jhoni por apoyarme y estar a mi lado, en los momentos buenos y malos.

Al Laboratorio Neofármaco por permitirme realizar mi trabajo de tesis en tan prestigiosa institución, gracias especialmente a Carlitos y Melissa, quienes han sabido guiarme en el proceso del estudio, del mismo modo a Leslie, Andrea y Brenda, quienes me han apoyado en varias etapas del proyecto, mis sinceros agradecimientos.

A amigos y profesores, quienes formaron parte de la carrera y facultad. En especial, a mi querida amiga Adri, quien me ha acompañado desde el inicio de la carrera.

A la Química Verónica Carrera, tutora de tesis, por su guía y sugerencias en la elaboración del presente trabajo.

ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS

A. PÁGINAS PRELIMINARES.....	ii
APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DE AUTOR.....	v
DEDICATORIA.....	vi
AGRADECIMIENTOS.....	vii
ÍNDICE GENERAL DE CONTENIDOS.....	viii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
B. CONTENIDOS.....	1
CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN.....	1
1.2. Antecedentes.....	2
1.2.2. Matico (Aristiguetia glutinosa).....	3
1.2.2.1. Extracto de matico.....	3
1.2.3. Validación.....	4
1.2.4. Validación de limpieza.....	5
1.2.4.1. Normativa de validación de limpieza.....	5
1.2.5. Métodos de limpieza.....	7
1.2.5.1. Mecanismos de limpieza.....	8
1.2.6 Contaminación cruzada.....	8
1.2.7. Tipos de contaminantes.....	8
• Contaminación microbiológica.....	8
• Contaminación física.....	9
• Contaminación química.....	9
1.2.8. Técnicas de muestreo.....	9
• Muestreo directo de superficies.....	10
• Muestreo indirecto (muestras de enjuague).....	10
• Método de placebo por lotes.....	10
1.2.9 Análisis de detergente.....	11
1.2.9.1. Detergentes.....	11

1.2.9.2. Tipos de detergente.....	11
1.2.9.3. Determinación de trazas de detergente	11
1.2.10. Porcentaje de recuperación	12
1.2.11 Caracterización del hisopo.....	12
• Capacidad de absorción e interferencia del hisopo	13
1.2.12. Análisis fisicoquímico	13
1.2.12.1. Espectrofotometría UV-VIS	13
1.2.12.2. Determinación de límites de aceptación fisicoquímicos	14
• Selectividad	15
• Linealidad.....	16
• Límite de cuantificación (LOQ) y Límite de detección (LOD).....	16
1.2.13. Análisis Microbiológico	16
• Medios de cultivo	16
• Muestreo microbiológico.....	17
OBJETIVOS	17
OBJETIVO GENERAL:	17
OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	17
CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA.....	18
2.1. Hipótesis.....	18
2.1.1. Hipótesis Nula	18
2.1.2. Hipótesis Alternativa	18
2.2. PROCESO DE LIMPIEZA.....	18
2.3. VALIDACIÓN DE LIMPIEZA	19
2.3.1. Recolección de Datos	19
2.3.2. Análisis de trazas de detergente.....	20
2.3.2.1. Preparación de Estándar	20
2.3.2.2. Verificación visual.....	20
2.3.3. Caracterización del hisopo.....	21
2.3.3.1. Capacidad de absorción	21
2.3.3.2. Interferencia del hisopo	21
2.3.4. Análisis Fisicoquímico	21
2.3.4.1. Test de recuperación.....	21
2.3.4.1.1. Test de recuperación de extracto de matico concentrado.	22
2.3.5. Determinación del límite de aceptación	23
2.3.6. Técnica de muestreo	26

3.3.7. Método analítico	27
2.3.8 Análisis fisicoquímico de muestras.....	31
Preparación de estándar	31
2.3.9. Determinación de la carga microbiológica.	32
2.3.9.1. Medio de cultivo.....	32
2.3.9.2. Muestreo Microbiológico.	32
2.3.9.3. Criterios de Aceptación Microbiológicos.	33
2.3.10. Análisis de los datos.	34
2.3.11. Optimización del proceso de limpieza.	34
CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN	36
3.1. Análisis y discusión de los resultados.....	36
3.1.1. Análisis de trazas de detergente.....	36
3.1.2. Caracterización del hisopo o swab.....	37
3.1.2.1. Capacidad de absorción	37
3.1.2.2. Interferencia del Hisopo	38
3.1.2.3. Test de recuperación.....	39
3.2. Método Analítico.....	40
3.2.1. Determinación del límite de aceptación.....	40
3.1.2.4. Análisis de muestras	47
3.1.2.4.2. Análisis de la determinación de la carga microbiana	48
3.1.2.4.2. Evaluación y Optimización del proceso de limpieza	49
CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES	50
4.1. Conclusiones	50
4.2. Recomendaciones.....	51
C. MATERIALES DE REFERENCIA	52
Referencias Bibliográficas.....	52
ANEXOS	56

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Taxonomía (<i>Aristiguetia glutinosa</i>).	3
Tabla 2. Equipos y utensilios involucrados en la ruta de fabricación de tabletas de matico en el Laboratorio Neofármaco Cía Ltda.....	25
Tabla 3. Áreas utilizadas en la ruta de fabricación de tabletas de matico en el Laboratorio Neofármaco Cía Ltda.....	26
Tabla 4. Preparación soluciones Selectividad	28
Tabla 5. Condiciones de operación.....	29
Tabla 6. Relación de Concentración respecto a porcentajes, linealidad.....	29
Tabla 7. Pesos y diluciones Linealidad del Sistema.....	30
Tabla 8. Pesos y diluciones, linealidad del método.....	30
Tabla 10. Especificaciones microbiológicas: Niveles de microorganismos.....	34
Tabla 11. Niveles considerados en cada factor.....	35
Tabla 14. Datos de Análisis de trazas de detergente.	36
Tabla 15. Datos de capacidad de absorción del hisopo	37
Tabla 16. Resultados del cálculo de Prueba de Recuperación.	39
Tabla 17. Cálculo del límite de aceptación fisicoquímico.....	41
Tabla 19. Resultados de los criterios de linealidad.	45
Tabla 20. Coeficientes de LOD y LOQ Extracto de Matico Concentrado.....	46
Tabla 21. Valores del límite y resultado de trazas de extracto de matico en mg.	47
Tabla 22. Valores de la concentración de trazas de extracto de matico concentrado.....	47

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Hisopo de muestreo directo.....	13
Figura 2. Esquema general del proceso de limpieza del tren de fabricación de tabletas de Matico.....	19
Figura 3. Metodología de Validación de limpieza..	20
Figura 4. Direcciones de técnica de muestreo.	26
Figura 5. Cambio de coloración del hisopo posterior a la sonicación.....	38
Figura 6. Observación de fibras del hisopo.	38
Figura 7. Barrido de solución Placebo.....	43
Figura 8. Barrido de solución Placebo Cargado.	44
Figura 9. Modelo lineal de la relación Absorbancia y Concentración (g/mL).	46

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Inspección visual.....	56
Anexo 2. Gráficos de regresión lineal.	57
Anexo 3. Resultados de validación de limpieza de la ruta de tabletas de Matico	57
Anexo 4. Gráficos de análisis fisicoquímico y microbiológico.....	67
Anexo 5. Optimización del proceso de limpieza	69
Anexo 6. Puntos de Muestreo.....	71

LISTA DE ACRÓNIMOS

FDA	United States Food and Drug Administration
GMPs	Good Manufacturing Practice
BPM	Buenas prácticas de manufactura
GCP	Good Clinical Practice.
ARCISA	Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia sanitaria
CIP	Clean-in-place

RESUMEN

El Laboratorio Neofármaco del Ecuador es una empresa farmacéutica, la cual se destaca por elaborar gran variedad de productos, especialmente a base de principios activos naturales, uno de sus productos naturales es la caja de tabletas de Matico, realizados a base de extracto de Matico como API (*Aristiguetia glutinosa*), el cual, al poseer flavonoides entre sus compuestos, actúa como antiinflamatorio, antimicótico y gastro protector. Sin embargo, la empresa Neofármaco al ser una empresa productora de medicamentos debe cumplir con las buenas prácticas de manufactura (BPM) para su correcta operación, normas establecidas por la OMS, FDA y ARCSA. Una de las normas que se cumple, es validar sus procesos de limpieza, principalmente con el objetivo de evitar la contaminación cruzada y la contaminación microbiológica, más aún si las mismas áreas y equipos son empleados para manufacturar productos diferentes. Por la misma razón se ha realizado la validación de limpieza de la ruta de fabricación de tabletas de Matico, en donde, se demostró que el proceso de limpieza no deja residuos de jabón, a través del análisis de trazas de detergente, además, se cumplió la verificación visual. Para llevar a cabo el muestreo de hisopado, se determinaron las características del hisopo, como: capacidad de absorción (0,3401 mL), ausencia de interferencia del hisopo, test de recuperación 96,54 por ciento, determinación del límite de aceptación (75 ppm). Por otra parte, en el análisis de muestras, se determinó que no se supera el límite, además, no se presenció contaminación microbiológica

Palabras Clave: Tabletado de matico, extracto de matico, BPM, validación de limpieza, contaminación cruzada, trazas, detergente, límite, contaminación microbiológica, Laboratorios, farmacéutica, Laboratorio Neofármaco.

ABSTRACT

The Laboratory Neofármaco of Ecuador is a pharmaceutical company, which stands out for producing a wide variety of products, especially based on natural active ingredients, one of its natural products is the box of Matico tablets, made from Matico extract as API (*Aristiguietia glutinosa*), which, having flavonoids among its compounds, acts as an anti-inflammatory, antifungal and gastroprotective. However, Neofármaco, being a drug manufacturing company, must comply with good manufacturing practices (GMP) for its correct operation, standards established by the WHO, FDA and ARCSA. One of the many standards they must comply with is to validate their cleaning processes, mainly to avoid cross-contamination and microbiological contamination, especially if the same areas and equipment are used to manufacture different products. For the same reason, the cleaning validation of the Matico tablet manufacturing route has been carried out. It was demonstrated that the cleaning process does not leave soap residues, through the analysis of traces of detergent, and visual verification was also carried out. For sampling through the swabbing method, the characteristics of the swab were determined: absorption capacity (0.3401 mL), absence of swab interference, recovery test 96.54 percent, determination of the acceptance limit (75 ppm). On the other hand, in the analysis of samples, it was determined that the limit is not exceeded, in addition, no microbiological contamination was witnessed.

Therefore, the alternative hypothesis of the study is accepted, which determines that the conditions of the cleaning method are optimal to guarantee sterility and elimination of traces after the production of matico tablets.

Key words: Matico tablets, matico extract, GMP, cleaning validation, cross contamination, traces, detergent, limit, microbiological contamination, Laboratories, pharmaceutical, Neofármaco Laboratory.

B. CONTENIDOS

CAPÍTULO I.- MARCO TEÓRICO

1.1. JUSTIFICACIÓN

En las buenas prácticas de manufactura (BPM) se establece que todos los procesos que se llevan a cabo en la elaboración de productos farmacéuticos, deben ser controlados y validados de tal forma que se pueda asegurar a través de resultados confiables, el cumplimiento de las especificaciones establecidas en la presentación del medicamento y las regulaciones de comercialización y ensayos clínicos (**Agencia Española de Medicamentos y productos Sanitarios, 2012**).

Este tema ha sido origen de varios debates, a causa de la breve mención en varios documentos de la agencia FDA como la ‘Guía de inspección de productos químicos farmacéuticos a granel’ y ‘Guía de inspección de biotecnología’. Por lo que, a partir de la creación de la ‘Guía de inspecciones validación de procesos de limpieza’ (**FDA, 1993**), se establece como requerimiento para la agencia, que las empresas establezcan procesos por escrito que describa como de validarán sus procedimientos de limpieza (**FDA, 1993**).

Por otra parte, de acuerdo con la guía de NCF, la aplicación de protocolos de limpieza y descontaminación eficiente y efectiva es de gran importancia para prevenir la contaminación cruzada en la producción de medicamentos, especialmente la limpieza de las zonas de difícil acceso en equipos debido a que es una fuente común de permanencia de restos de producto (**Agencia española de medicamentos y productos sanitarios, 2015**). Actualmente, en el laboratorio Neofármaco del Ecuador CIA LTDA, no existe un proceso de validación de limpieza enfocada a la ruta de fabricación de tabletas de matico, lo que representa un alto riesgo de contaminación en el área de producción farmacéutica y de productos naturales.

Según el informe 32 de la organización mundial de la salud (OMS, 1996), se debe considerar un alto nivel de limpieza y saneamiento en cada paso del proceso productivo, tomando en cuenta varios factores como: uniforme del personal, envases, materiales, instalaciones, aparatos, equipos y todo lo que entre en contacto con el producto que pueda representar una fuente de contaminación. Por consiguiente, el principal objetivo de realizar una validación de limpieza en esta ruta específica es minimizar el riesgo por contaminación cruzada causada por los residuos existentes luego del proceso de producción de las tabletas. La validación del proceso de limpieza garantiza la esterilidad y pureza de los medicamentos producidos además de mejorar el control de la producción, incrementando la eficiencia y reproducibilidad del proceso de fabricación (**Rezquellah, 2015**).

Por tanto, en el presente proyecto de investigación se establece el proceso de validación de limpieza de la ruta de fabricación de tabletas de matico en el laboratorio Neofármaco del Ecuador, con el propósito de reducir el riesgo de contaminación cruzada.

1.2. Antecedentes

1.2.1 Laboratorio Neofármaco del Ecuador Cía Ltda

El Laboratorio NEOFÁRMACO DEL ECUADOR Cía Ltda es una empresa productora de medicamentos, cosméticos y productos naturales con aplicación medicinal, desde el año 1969, ubicada en la ciudad de Ambato, posee sedes en las ciudades de Quito y Guayaquil (**Neofármaco, 2021**). El Laboratorio NEOFARMACO DEL ECUADOR Cía Ltda, se encuentra comprometido con la seguridad, productividad, salud, calidad y mejora continua en los procesos productivos; del mismo modo se enfoca en el cuidado del entorno de sus trabajadores y labor social.

La empresa establece planes de farmacovigilancia continua, con la finalidad de disminuir la incertidumbre y riesgos que los productos pudieren causar a sus pacientes; de esta forma, a lo largo de su trayectoria, los productos que ofrecen han sido aceptados por médicos y pacientes, debido a su éxito terapéutico y calidad (**Neofármaco, 2021**).

1.2.2. Matico (*Aristiguetia glutinosa*)

Es una planta del tipo arbusto perenne el cual puede crecer hasta 1 a 3 metros de altura, posee hojas color verde oscuro con un largo de alrededor de 7 a 10 cm y ancho de 3,5 cm. Usualmente se los puede encontrar como flora endémica en el Ecuador, en las provincias de Cotopaxi, Imbabura, Tungurahua, Azuay, etc. (**Andrade & Murillo, 2019**).

Tabla 1. Taxonomía (*Aristiguetia glutinosa*).

Reino	Plantae
División	Tracheophyta
Clase	Magnolipsida
Familia	Compositae
Género	Aristeguetia
Especie	Glutinosa
Nombre Común	Matico

Fuente: (Fiallos, 2018).

1.2.2.1. Extracto de matico

El extracto de matico concentrado es de tipo etanólico, a partir de las hojas de *Aristeguetia glutinosa*, con un rendimiento promedio de 16,25%. Es un líquido de aspecto denso y viscoso de color verde oscuro intenso, posee un olor característico a la especie vegetal y sabor amargo. Su densidad es de 1,0100 a 1,05 g/mL (**Neofármaco, 2021**).

Se obtiene a través de un proceso de secado, maceración y extracción líquido-líquido (**Neofármaco, 2021**). La empresa NEOFÁRMACO DEL ECUADOR, a través de la ardua investigación farmacológica del extracto de matico, concluyeron a través de sus estudios que aplicar matico en formulaciones farmacológicas, actúa como antiinflamatorio, antimicótico, antimicrobiano y gastro protector, al poseer metabolitos secundarios como flavonoides, antocianinas y glicoflavonoides. El flavonoide más evaluado en este estudio fue la Quercetina, la cual se empleó como marcador fitoquímico (**Peña, 2016**).

1.2.3. Validación

Según la FDA (United States Food and Drug Administration), el proceso de validación consiste en el conjunto de documentación, en donde se evidencia y garantiza con un alto grado de seguridad, el cumplimiento de un proceso específico, con las características de calidad esperadas **(Nash & Wachter, 1993)**. De acuerdo con la FDA, el aseguramiento de la calidad de un producto es el resultado del enfoque cuidadoso y sistemático de varios factores, tanto de la calidad de materia prima, materiales, un adecuado diseño de proceso y control del proceso durante y posterior a la fabricación del producto **(Nash & Wachter, 1993)**. Por otra parte, en las GMPs (Good Manufacturing Practice) se manifiesta que todos los métodos y procesos que formen parte de la manufactura de fármacos deben ser validados y controlados, de tal forma que se garantice que el producto final apruebe las especificaciones y cumpla con las normativas establecidas para la venta y consumo de los mismos **(Rezquellah, 2015)**.

Además, la Organización mundial de la salud en su informe 32 **(OMS, 1996)**, dispone que los diversos procedimientos y procesos en industrias farmacéuticas deben desarrollarse basándose en estudios de validación; de esta forma se planificará, que la secuencia de validaciones posteriores, aseguren los resultados esperados de manera fiable a lo largo del tiempo de operación de las plantas. Además, la validación está enfocada principalmente a procesos de manufactura, analíticos y de limpieza **(OMS, 1996)**.

Por otra parte, la validación de procesos forma parte fundamental de las GMPs, así como de las GCP (Good Clinical Practice), siendo indispensable en el sistema de calidad farmacéutico **(WHO, 2012)**.

Según la ICH Q7, la validación es un plan el cual a través de documentación veraz brinda seguridad de un sistema, método o proceso específico que resultará en valores que cumplan con los parámetros de aceptación determinados **(Munro, 2017)**.

En Ecuador, la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia sanitaria (ARCSA) es responsable de regular las BPM tanto en industrias alimentarias como laboratorios farmacéuticos. En el capítulo 14 de la Guía de verificación de buenas prácticas de

manufactura se establecen los aspectos generales de validación que debe cumplir la industria farmacéutica basados en el informe 32 de la OMS (**Molzon et al., 2000**).

1.2.4. Validación de limpieza

La validación de limpieza es la documentación en donde se evidencia resultados que garantizan la eficiencia del proceso de limpieza aplicado en todas las superficies y áreas utilizadas durante el proceso de fabricación de un fármaco, de tal forma que se descarte con alta seguridad, la presencia de trazas o residuos de un producto en otro (**Haider & Asif, 2010**).

1.2.4.1. Normativa de validación de limpieza

Según la (**Agencia española de medicamentos y productos sanitarios., 2015**), se debe evitar la contaminación cruzada estableciendo procesos reproducibles y eficaces de limpieza de tal forma que se pueda controlar minimizando el riesgo de contaminación cruzada.

Por otra parte, de acuerdo con la (**WHO, 2012**), no es necesario realizar una validación del proceso de limpieza a métodos no críticos como en el caso de la fabricación de varios lotes del mismo producto y exterior de recipientes; sin embargo, es importante ejecutar la validación de limpieza en establecimientos, en donde, se manufacture varios tipos de productos farmacéuticos, enfocándose principalmente en equipos, áreas, utensilios y prendas.

De acuerdo con la OMS, es una necesidad primordial en procesos farmacéuticos, prevenir el desarrollo de microorganismos en superficies de trabajo, por lo que se debe documentar evidencias de los ciclos de limpieza. Además, se debe mantener una adecuada limpieza de equipos de tal forma que se asegure la sanitización y esterilización de los mismos (**WHO, 2012**).

A partir de la publicación “Guía para Inspecciones: Validación del proceso de limpieza” (**FDA, 1993**) se considera normativo, realizar documentación de validación de limpieza, en plantas farmacéuticas. En esta guía se establece principalmente la elaboración de documentos, en donde se redacte con alto detalle los pasos del proceso de limpieza, la metodología de muestreo y recuperación del analito específico a cuantificar, además del

grado de error e interferencia de los diversos métodos analíticos, equipos y materiales empleados en el proceso de análisis y muestreo (**Rezquellah, 2015**).

- **Health Canada Guidelines**

La Guía de validación de limpieza (GUI-0028) establecido por Health Canada Guidelines, ratifica que la validación de limpieza se ejecuta para demostrar con alto grado de confianza que, el proceso de limpieza aplicado, reduce la posibilidad de contaminación cruzada, además que los resultados de una limpieza reproducible, se evidenciarán en registros fiables, considerando, como criterios de aceptación, no sobrepasan los límites calculados en rangos seguros, a través de pruebas toxicológicas de los residuos y principios activos (**Health Canada, 2021**).

En la validación de limpieza se debe tomar en cuenta eliminar residuos de producciones anteriores, como subproductos, compuestos en descomposición e ingredientes activos; productos intermedios, ingredientes utilizados durante la manufactura, residuos de materiales y detergentes de limpieza, además se debe asegurar el control de posible contaminación microbiana (**Health Canada, 2021**).

En el caso que el proceso de limpieza no cumpla con resultados fiables y reproducibles, es obligación de la empresa aplicar actividades correctivas, de forma permanente, en donde, se pueda indicar que en el diseño e instalación de los diversos equipos, estos son limpiados y operados, de tal manera, que se evite la contaminación cruzada y microbiana de los productos manufacturados (**Health Canada, 2021**).

- **ARCSA**

El ARCSA se rige según la Guía de verificación de buenas prácticas de manufactura para laboratorios farmacéuticos establecida por la Organización Panamericana de la Salud (OPS), capítulo 14 (Sección 51-59), se establecen los aspectos generales que se debe cumplir en industrias farmacéuticas Ecuatorianas, en donde se cuestiona la limpieza de equipos,

materiales, superficies, áreas, personal así como la revisión de protocolos, informes, registros de validación, métodos de muestreo, estudio microbiológico, etc. **(Molzon et al., 2000)**.

- **Documentación del proceso de validación de limpieza**

Como un proceso de validación, la validación de limpieza se debe ejecutar en concordancia a protocolos revisados y aprobados, en estos se deben registrar el personal responsable de revisión y aprobación de la documentación, criterios de aceptación de cada parámetro, y el cronograma de las revalidaciones **(Rezquellah, 2015)**.

Por otra parte, es necesario la elaboración de un informe final del proceso de validación, revisado y aprobado por la persona responsable **(Rezquellah, 2015)**.

Para llevar a cabo la validación de limpieza es necesario iniciar con un plan maestro de validación, en donde se establecen los requerimientos del informe final de validación. Un reporte de validación debe incluir: objetivo, responsabilidades de las autoridades miembros del área de validaciones, equipos, materiales, procesos, criterios de aceptación, métodos analíticos utilizados, procesos y métodos de muestreo, estructura del proceso de limpieza, análisis de datos, conclusiones y referencias **(McLaughlin et al., 1999)**.

1.2.5. Métodos de limpieza

Según la **(WHO, 2012)**, las industrias manufactureras deben crear una política de limpieza, en donde, se incluya la desinfección de todas las superficies que entran en contacto con el producto semielaborado, entre lotes del mismo producto, cuando la producción se realiza durante un periodo de varios días. Además, de la limpieza posterior a la fabricación de un producto, siendo el siguiente en el proceso de manufactura, una formulación diferente; asimismo, se debe considerar evaluación periódica entre los lotes de fabricación **(McLaughlin et al., 1999)**.

La empresa debe tomar en cuenta el diseño del equipo para establecer los pasos del proceso de limpieza ya sea especialmente los equipos con sistemas de limpieza semiautomáticos o completamente automáticos clean-in-place (CIP) **(Bismuth & Neumann, 2019)**.

Una de las medidas técnicas de la prevención de contaminación cruzada es el empleo de sistemas in situ de limpieza automática. Sin embargo, deben ser de eficiencia validada (**Agencia española de medicamentos y productos sanitarios, 2015**).

1.2.5.1. Mecanismos de limpieza

Según (**LeBlanc, 2000**), el mecanismo de limpieza se elige según la naturaleza del analito a remover, como acción mecánica, reacción química, detergencia y disolución. En la acción mecánica se considera acciones físicas de aplicación de agua y/o aire a presión, restregado y cepillado. En el caso de la disolución se requiere seleccionar el solvente adecuado para remover el principio activo completamente, el solvente más utilizado comúnmente es el agua, ya que es económica, ecológica, no tóxica y no deja residuos (**McLaughlin et al., 1999**) En otros casos se necesita aplicar la mezcla de varios solventes para alcanzar o mejorar la disolución según las características del analito (**Bismuth & Neumann, 2019**).

También se considera la detergencia, en donde se aplica tensioactivos, estos pueden actuar como emulsionantes, solubilizantes o humectantes (**Bismuth & Neumann, 2019**). Además, las reacciones químicas como hidrólisis y oxidación se aplican para cambiar de composición química el analito, regularmente se utiliza lejía (hipoclorito de sodio) para oxidar materia orgánica (**LeBlanc, 2000**).

1.2.6 Contaminación cruzada

Los diversos productos farmacéuticos pueden ser contaminados accidentalmente por varios agentes como microorganismos; material particulado presente en el aire, del área de producción o en los canales de suministro de aire, residuos de productos fabricados previamente (excipientes, principios activos); residuos del proceso de limpieza como restos de detergente, desinfectantes, ácidos y bases fuertes; etc (**WHO, 2012**).

1.2.7. Tipos de contaminantes

- **Contaminación microbiológica**

Este tipo de contaminante es llamado bioburden o biocontaminación, el uso de materiales y equipos esterilizados previo a su uso es de primordial importancia para evitar el desarrollo

de colonias, especialmente en la manufactura de formas farmacéuticas que contienen agua y materia prima que puede favorecer la proliferación de estos (**Bismuth & Neumann, 2019**). La presencia de microorganismos puede resultar en cambios de la forma farmacéutica como desestabilizar cremas, suspensiones y emulsiones, además puede provocar graves daños en la salud (**Bismuth & Neumann, 2019**). Por otra parte, después de la limpieza se requiere monitorear la humedad del área, ya que esta puede favorecer la corrosión y condensación las cuales promueven la contaminación microbiana (**McLaughlin et al., 1999**).

- **Contaminación física**

Los contaminantes físicos y mecánicos no causan daños en la forma del fármaco, sin embargo, estos perjudican la apariencia o presentación del medicamento, además, representa un peligro para la salud, como, por ejemplo: residuos metálicos, fibras o partículas (**Bismuth & Neumann, 2019**).

- **Contaminación química**

Incluyen trazas de ingredientes activos, productos de reacciones químicas de síntesis o del proceso de manufactura farmacéutica, sobre todo, es posible que se produzca contaminación química con residuos de los medicamentos elaborados, atrapados en puntos de difícil acceso de equipos, áreas y materiales empleados en la ruta de fabricación. La contaminación química conlleva serios riesgos a los pacientes ya que puede causar reacciones secundarias o activar alergias en los mismos (**Bismuth & Neumann, 2019**).

1.2.8. Técnicas de muestreo

En el apéndice 3 de validación de limpieza, establecido por (**WHO, 2012**), se considera la técnica de muestreo directo de superficie y el muestreo de agua de enjuague como métodos de muestreo aceptables, siendo la aplicación de las dos técnicas, el que otorga resultados más fiables.

- **Muestreo directo de superficies**

Es considerado el método más utilizado, consiste en emplear un palillo con una superficie inerte en la punta (generalmente algodón) y frotarlo a través de movimientos metódicos sobre la superficie en estudio. Sin embargo, la selección del tipo de material de muestreo, es esencial para evitar interferencias en el resultado de las pruebas que se realicen (**WHO, 2012**). Por otra parte, otros factores que deben ser considerados es el número de hisopos a emplear, el estado en el que se emplearan ya sea mojados o secos, la técnica de hisopado, además, el solvente o medio de muestreo debe ser apropiado para los test (**WHO, 2012**).

- **Muestreo indirecto (muestras de enjuague)**

Las muestras de enjuague o de lavado pueden evidenciar que el método de limpieza es adecuado para las diversas partes de equipos y puntos de difícil acceso, además brinda una perspectiva general de la efectividad del proceso de limpieza. Puede ser empleado para observar residuos de agentes de limpieza como detergentes y jabones. En este método se debe cubrir el mayor porcentaje de superficie de contacto en los equipos, siendo aceptable $>80\%$, razonable $>50\%$ y cuestionable al cubrir un área menor al 50% . Sin embargo, este método por sí solo no brinda resultados completos, por lo que debe ser recomendado combinarlo con el muestreo directo por hisopado (**WHO, 2012**).

- **Método de placebo por lotes**

Este método se considera de alto costo y de difícil aplicación, consiste en producir lotes de placebo, luego, analizar las trazas presentes de productos manufacturados con anterioridad. Posteriormente, se realiza un muestreo por hisopado y se analizan los analitos en cada muestra. Sin embargo, este proceso no garantiza que los residuos se distribuyan con uniformidad en las superficies utilizadas, por lo que no brinda resultados fiables (**WHO, 2012**).

1.2.9 Análisis de detergente

1.2.9.1. Detergentes

El uso de detergentes en el proceso de limpieza facilita la remoción de agentes contaminantes, sin embargo, la formulación de estos debe ser conocido antes de su uso, por ejemplo, los detergentes que poseen residuos catiónicos pueden adherirse fuertemente a las superficies de vidrio y permanecer en la superficie a pesar del lavado. Los límites aceptables de residuos de detergente también deben ser considerados durante el proceso de validación de limpieza **(WHO, 2012)**

1.2.9.2. Tipos de detergente

Los detergentes pueden clasificarse de dos categorías principales:

1. Conformado por detergente alcalino en (80%-95%) y enzimas, dispersante, tensioactivo, quelante, etc., en (5%-20%).
2. Conformado por detergente ácido en (80%-95%) y enzimas, dispersante, tensioactivo, quelante en (5%-20%) **(Rezquellah, 2015)**.

Los detergentes pueden dispersar, solubilizar o emulsionar un compuesto **(FDA, 1993)**, al actuar como agente humectante mejora la penetración y disminuye la tensión superficial del agua. Al solubilizar el analito rompe sus enlaces con sus propiedades tensioactivas, es similar a la emulsión, sin embargo, en esta reacción forma gotas del emulsificador de grasa. **(McLaughlin et al., 1999)**. Como dispersante mejora la propiedad de suspensión del principio activo, generalmente los detergentes poseen todas estas propiedades **(Bismuth & Neumann, 2019)**.

1.2.9.3. Determinación de trazas de detergente

En este método, se realiza muestreo indirecto del agua del último enjuague al finalizar el proceso de limpieza de los equipos, entre los análisis que se realiza a estas muestras se encuentra el pH y conductividad **(McLaughlin et al., 1999)**.

1.2.10. Porcentaje de recuperación

Se enfoca en analizar el tipo de hisopo, método de muestreo y proceso analítico, con el fin de determinar su eficiencia al recuperar los residuos sobre las superficies de los equipos, que tienen contacto con el producto (Nishihara, 2014). Para evaluar la técnica de toma de muestra, se realiza ensayos colocando soluciones conformadas por solventes y principios activos de interés, sobre las superficies objeto de estudio. Posteriormente, mediante el método de hisopado sobre las superficies se obtiene la cantidad recuperada. Un porcentaje de recuperación mayor al 80% se considera bueno, mayor al 50% se considera razonable y menor al 50%, no es aceptable. Existen factores que pueden interferir en el porcentaje de recuperación, estos son el tipo de material analizado, el tipo de hisopo y el solvente utilizado (Arizaga & Vinueza, 2015). Para su cálculo se utiliza la siguiente ecuación:

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

(Arizaga & Vinueza, 2015).

1.2.11 Caracterización del hisopo

Los hisopos son dispositivos utilizados para recuperar muestras de diversas superficies, sean estas regulares o irregulares con el fin de obtener la cantidad de residuos necesarios. Tienen una función importante en los procesos de validación de limpieza en la industria farmacéutica ya que permite obtener muestras de áreas críticas y de difícil acceso.

Las características que deben tener los hisopos son:

- El material debe ser poliéster tejido
- Generar bajas partículas
- Buena capacidad de absorción
- Buena resistencia química a solventes
- Flexibilidad
- Fácil esterilización
- Tener un mango largo para facilitar la toma de muestras



Figura 1. Hisopo de muestreo directo. Guevara, K.,2022.

- **Capacidad de absorción e interferencia del hisopo**

Los hisopos utilizados en validaciones de limpieza deben presentar buena capacidad de absorción para ser saturada o hidratada de tal forma que aporte solubilidad al muestreo físico (Bismuth & Neumann, 2019). La interferencia del hisopo en los resultados depende principalmente del tipo de material del que está fabricado y del solvente empleado, el cual puede solubilizar los componentes del hisopo como partículas, fibras o pegamento, esta se debe evaluar durante el estudio de validación de limpieza para descartar los valores de interferencia en los resultados (Arizaga & Vinueza, 2015).

1.2.12. Análisis fisicoquímico

1.2.12.1. Espectrofotometría UV-VIS

Mide la cantidad de longitudes de onda de luz UV transmitidas o absorbidas por las partículas presentes en la muestra comparadas con un blanco o estándar, por lo que se puede saber el analito presente en la muestra y su concentración (Justin, 2001). La absorbancia de una muestra es determinada a través del siguiente proceso: en primer lugar, la luz parte desde una fuente de luz estable (Tungsteno, halógenas deuterio) hasta el seleccionador de longitud de onda (monocromador), también se puede utilizar filtros (filtro de absorción, filtro de corte, filtro de paso de banda) para estrechar las longitudes de onda; después pasa por la muestra, es indispensable medir una muestra blanco, el resto de luz que logra sobrepasar la muestra llega al detector y finalmente al procesador de la señal (Torres, 2017).

En otras palabras, es un método instrumental mediante el cual se encuentran señales residuales de ciertos analitos de interés para detectar la presencia o ausencia de estos en ciertas superficies (Torres, 2017). Este método se basa en evaluar una longitud de onda para la detección de cierto analito, evaluando si existe interferencia de los analitos de interés o de otras sustancias. Las ventajas de la espectrofotometría UV-VIS es que tiene alta especificidad, además para validar métodos se debe tomar en cuenta la linealidad, los límites de detección y la precisión (Justin, 2001).

1.2.12.2. Determinación de límites de aceptación fisicoquímicos

Los límites de aceptación se establecen tomando en cuenta que si luego de fabricar un producto A, se realiza el proceso de limpieza para fabricar el producto B, la cantidad máxima del analito contaminante presente en el producto B, no representa un riesgo. El límite de la presencia de analito en el producto siguiente y limite en control de superficies es una manera de expresar el límite relacionado con la dosis terapéutica. Además, se considera el cálculo de límite del límite de aceptación (10 ppm), debido a que es una medida del riesgo que varía con las formas de dosificación y las vías de administración. Para garantizar la elección del límite más estricto, se selecciona el valor más bajo (Rezquellah, 2015).

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

$$L1(ppm) = \frac{1}{SF} * \frac{d}{D}$$

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

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

SF= Factor de seguridad.

Limite en el control de superficies o bien en disolventes de lavado

Superficie:

$$L2 \left(\frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2} \right) = L1(\text{ppm}) * \frac{T_{\text{min}}}{S} * 1000$$

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

S= Superficie total de contacto con el equipo o cadena de equipos (cm²).

Límite 10ppm

$$[\text{L. A.}] = \frac{10(\text{mg/Kg}) \times \text{TL}(\text{kg}) \times 100(\text{cm}^2) \times 1000 \mu\text{g/mg}}{\text{SE}(\text{cm}^2) \times \text{V}(\text{mL})}$$

- L. A. = Limite de Aceptación
- TL = Tamaño de Lote en Kg
- 100 = Superficie de muestreo del Hisopado en cm²
- SE= Superficie del Equipo en contacto con el producto en cm²
- V = Volumen del solvente empleado en el hisopado en mL.
- 1000 μg/ mg corresponde al factor de conversión de mg a μg

Los cálculos de los límites se realiza en cada equipo y se toma el valor más bajo, lo que significa que es el límite más estricto que representa la concentración teórica máxima permitida (**Rezquellah, 2015**).

- **Selectividad**

Parámetro que determina si el método da resultados específicos a un grupo de componentes particulares, sin embargo, se le confundir con la especificidad el cual permite determinar concretamente un analito, a pesar que se encuentre en un medio con varios excipientes (**USP, 2007**).

- **Linealidad**

La linealidad nos permite conocer la relación entre la concentración del analito y su absorbancia, usualmente se realiza la linealidad del sistema y del método empleando 5 niveles de concentración del analito a estudiar (**USP, 2007**).

- **Límite de cuantificación (LOQ) y Límite de detección (LOD)**

En general el límite de detección o LOD se establece como 2 a 3 veces el valor del ruido y el LOQ o límite de cuantificación se determina como 10 a 20 veces el ruido en promedio (**USP, 2007**).

1.2.13. Análisis Microbiológico

Durante el desarrollo de los estándares de calidad para la industria farmacéutica, la Organización Mundial de la Salud explicó a través de su Anexo 3 la creciente necesidad de establecer medidas preventivas para controlar el crecimiento microbiano y eliminar los contaminantes biológicos. Por otra parte, en los instructivos de limpieza, se deben establecer procesos que minimicen la probabilidad de crecimiento microbiano, por lo que se debe mantener un registro de la frecuencia de la limpieza en áreas y equipos, además, se debe considerar en el programa de validación de limpieza el intervalo de tiempo entre la limpieza y el uso del equipo (**WHO, 2012**).

- **Medios de cultivo**

Los medios de cultivo permiten realizar los cultivos de muestras de las diferentes áreas de interés en la validación de un método de limpieza. Estos cultivos permiten evidenciar si existe presencia o ausencia de los microorganismos de interés. Entre los medios de cultivo más utilizados, se encuentran el agar TPC (Total Plate Count) que permite el cultivo de microorganismos aerobios mesófilos, también se utiliza el agar extracto de malta para el cultivo de hongos (levaduras y mohos). Otros medios de cultivo utilizados son el TSA y el medio Sabouraud Dextrosa (**Rezquellah, 2015**).

- **Muestreo microbiológico**

El muestreo microbiológico es de gran importancia ya que de esto dependen los resultados, para llevar a cabo el muestreo se deben tener en cuenta todas las medidas de protección para evitar contaminación en las muestras. Para llevar a cabo el muestreo microbiológico se utilizan dos técnicas, una de ellas es la técnica de placa por contacto y otra es la técnica del hisopado. Los resultados se deben expresar en UFC/cm² de la superficie muestreada (**Rezquellah, 2015**). La técnica de placa es únicamente aplicable en superficies planas, mientras que la técnica del hisopado sirve para muestrear superficies planas e irregulares.

Para realizar la técnica de muestreo de placa por contacto se deben tener preparados los agares en sus respectivas cajas Petri, se debe abrir la paca y presionar el agar sobre la superficie a muestrear durante al menos 10 segundos, cerrar inmediatamente la caja Petri y llevar a su respectiva incubadora (**Barra, 2012**).

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL:

Validar el método de limpieza aplicado a la ruta de fabricación de tabletas de Matico en el laboratorio Neofármaco Cía LTDA.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

- Determinar el porcentaje de recuperación de extracto de matico concentrado a través de la técnica de muestreo por hisopado
- Identificar los límites máximos aceptables de trazas de extracto de matico presentes en los equipos y áreas involucradas, posterior a la limpieza de estos.
- Efectuar los análisis microbiológicos, fisicoquímicos y de trazas de detergente en los puntos muestreados.
- Identificar la efectividad del proceso de limpieza a través de los criterios de aceptación establecidos.

CAPÍTULO II.- METODOLOGÍA

El proceso experimental se basa en el apéndice 3 (validación de limpieza), del informe 53 de la OMS (**WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparation, 2012**).

2.1. Hipótesis

2.1.1. Hipótesis Nula

Las condiciones del método de limpieza no son óptimas para garantizar total esterilidad y eliminación de trazas posterior a la producción de tabletas de matico.

2.1.2. Hipótesis Alternativa

Las condiciones del método de limpieza son óptimas para garantizar total esterilidad y eliminación de trazas posterior a la producción de tabletas de matico.

2.2. PROCESO DE LIMPIEZA

Posterior al proceso de manufactura del producto tabletas de matico, en cada área se realiza su respectivo proceso de limpieza, como se observa en la figura 2. El cual inicia con la preparación del personal y equipos, luego se realiza una limpieza profunda con alcohol al 70% y posteriormente con alcohol al 96%, con la finalidad de garantizar la remoción total de residuos, excipientes y restos de extracto de matico presentes en las superficies de contacto de los diferentes equipos, áreas y utensilios. A continuación, los operarios realizan 2 ciclos de lavado, empleado una solución de detergente-agua del 25%, se repite el mismo proceso con cada una de las partes desmontables de los equipos, finalmente se secan las superficies de los equipos y se coloca el respectivo registro de limpieza.

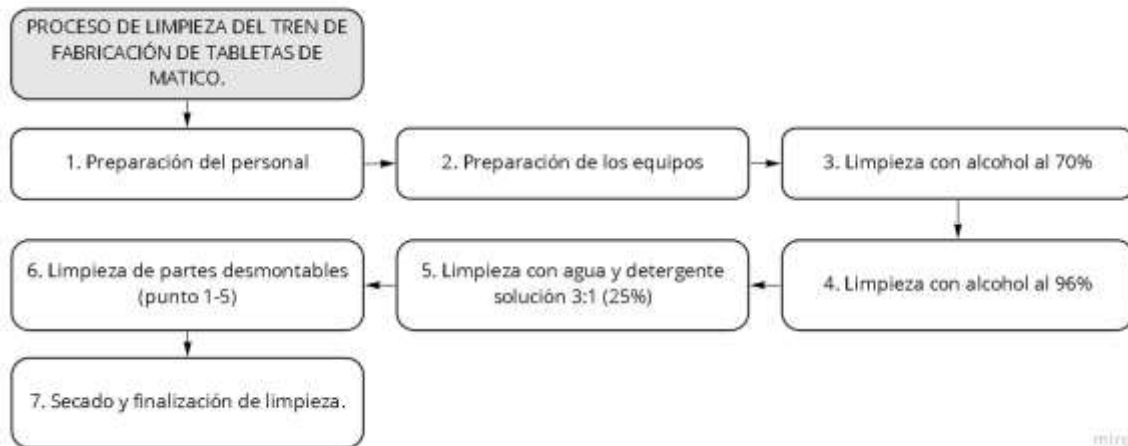


Figura 2. Esquema general del proceso de limpieza del tren de fabricación de tabletas de Matico. **Realizado por:** Guevara, K., 2022.

2.3. VALIDACIÓN DE LIMPIEZA

Las tabletas de matico es un producto que su proceso de producción recorre el área de pesaje de materias primas naturales, área de producción de productos naturales y área de producción de productos sólidos (Neofármaco, 2021).

2.3.1. Recolección de Datos

La validación de limpieza se aplicará en 1 lote de producción de las tableas de matico en el Laboratorio Neofármaco del Ecuador. Para la validación de limpieza, se considerará cuatro aspectos principales, como se observa en la figura 3, siendo análisis de trazas de detergente, caracterización de hisopos, análisis fisicoquímico y microbiológico.

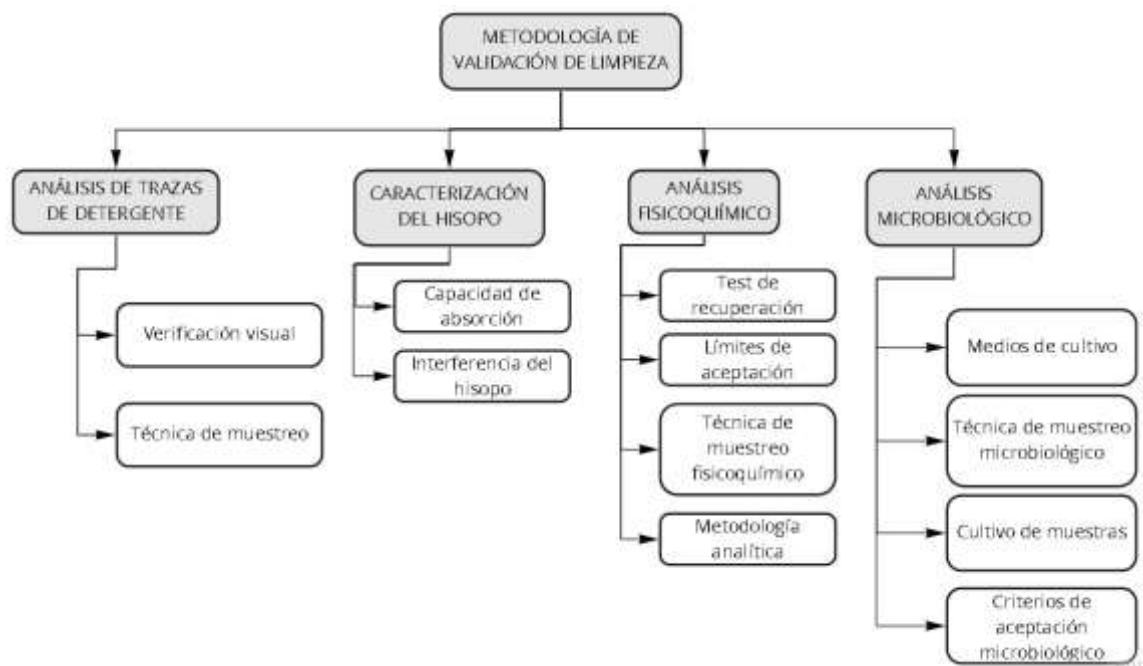


Figura 3. Metodología de Validación de limpieza. **Realizado por:** Guevara, K., 2022.

2.3.2. Análisis de trazas de detergente

Inicialmente se realizará la determinación de restos de detergente, en donde se toma una muestra del agua del último enjuague de equipos. En primer lugar, se recoge el agua de lavado en recipientes, se toma una muestra homogénea del contenedor y se procede a determinar conductividad y pH de cada punto de muestreo.

2.3.2.1. Preparación de Estándar

Se prepara un estándar de detergente de 10 ppm, en donde se pesa 100 mg de detergente (Jabón líquido Neofármaco) y se afora con agua purificada en un balón de 100mL. Luego se toma un alícuota de 1mL, y se afora en un balón de 10 mL, por triplicado. Posteriormente se realiza una curva en relación concentración-pH y concentración-conductividad (USP, 2007).

2.3.2.2. Verificación visual

Tanto las áreas internas como externas de los equipos deben encontrarse visiblemente limpios luego de terminar el proceso de limpieza, se toma en cuenta principalmente las superficies que se encuentran en contacto directo con el producto y los puntos críticos o de difícil acceso.

Este paso se realizará previo al proceso de validación de limpieza (**Bismuth & Neumann, 2019**).

2.3.3. Caracterización del hisopo

2.3.3.1. Capacidad de absorción

Para determinar la capacidad de absorción del hisopo se debe pesar de manera individual 10 hisopos secos que no se hayan utilizado con anterioridad. Posteriormente, se sumerge el hisopo en el disolvente, se retira el hisopo del disolvente y se suspende hasta que se detenga el goteo. Finalmente se pesa individualmente los 10 hisopos saturados y se calcula la capacidad de absorción del hisopo (**USP, 2007**).

2.3.3.2. Interferencia del hisopo

Se coloca hisopos limpios y secos (nuevos) en tubos de ensayo que contienen etanol al 96%. Se coloca en el equipo de ultrasonido por 30 segundos. Finalmente, analizará el solvente a través del método analítico por espectrofotometría descrito en el análisis fisicoquímico de muestras.

2.3.4. Análisis Fisicoquímico

En primer lugar, se selecciona los hisopos que cumplan con las características adecuadas para el proceso de muestreo fisicoquímico con la finalidad que el material del hisopo no interfiera con la metodología analítica a utilizar.

2.3.4.1. Test de recuperación

La finalidad de realizar la prueba de recuperación es identificar la fiabilidad de la técnica de muestreo, tomando en cuenta las limitaciones presentes. Se debe considerar un criterio de aceptación mayor al 50% sin embargo si el porcentaje de recuperación es mayor al 70% se considera como ideal, en el caso que el resultado sea mayor a 150% no se consideran fiables debido a la alta posibilidad de resultar en valores erróneos (**Neofármaco, 2021**).

2.3.4.1.1. Test de recuperación de extracto de matico concentrado.

Para determinar el porcentaje de recuperación se prepara inicialmente, una solución estándar de extracto de matico concentrado en donde se pesa 0.25 g del extracto se afora en un balón de 50 mL con etanol al 96%. Posteriormente, se toma una alícuota correspondiente a la concentración que se llegará en teoría luego del muestreo, siendo de 50 ppm, 70 ppm y 100ppm, por lo que se coloca 10 μ L, 14 μ L y 20 μ L, respectivamente, cada alícuota de coloca en una placa de acero inoxidable de 100 cm², previamente lavada y desinfectada. A todas las placas se deja secar por 5 minutos. Luego, se muestrea con la técnica establecida (Neofármaco, 2021).

A continuación, se coloca 10 mL del solvente en un tubo de ensayo y 5 mL en otro. En el tubo que contiene 10 mL se coloca el hisopo a hidratar por 10 min, una vez realizado el muestreo se coloca en el tubo con 5 mL de solvente, se corta la parte sobresaliente del hisopo, se tapa el tubo de ensayo con parafilm y se sónica por 10 min. Estos pasos se realizan por cada placa de muestreo preparada. Luego se analiza las muestras a través del método analítico, colocando cada solución en una jeringa nueva de 10 mL y se filtra a través de un filtro jeringa de 0,45 μ m, la solución filtrada se coloca en una celda de cuarzo previamente lavada y seca, finalmente se analiza por espectrofotometría a 300 nm, utilizando etanol al 96% como blanco.

- **Cálculo de concentración de la muestra**

$$A_m = \text{Abs muestra} - \text{Abs (solvente hidratación hisopo)}$$

$$C_m = (A_m / A_{std}) * C_{std}$$

En donde:

C_m = Concentración muestreada (g/mL)

A_m = Absorbancia muestreada

A_{std} = Absorbancia del estándar

Cstd=Concentración del estándar

a. Cálculo de la cantidad real

$$g \text{ (real)}=Cm*Vr$$

$$Vr = 5\text{mL}$$

b. Cálculo cantidad teórica

$$g \text{ (teórico)}= Csm*Vt$$

Csm= Concentración de solución madre (g/mL)

Vt= Alícuota mL

- **Cálculo del porcentaje de recuperación**

$$\%R = \frac{\text{Cantidad obtenida con solución real}}{\text{Cantidad obtenida con solución teórica}} \times 100$$

(Neofármaco, 2021)

2.3.5. Determinación del límite de aceptación

Existen varios factores que establecen los criterios del cálculo de límite de aceptación como el tamaño de lote, dosis terapéutica o toxicidad. Por lo que se establece el límite de restos del producto (A), que pudieran estar presentes en el siguiente producto de fabricación (B), sin que represente un riesgo significativo (**Rezquellah, 2015**). Inicialmente se calcula las superficies de contacto en cm² de cada equipo, área y utensilios, como se observa en las tablas 1 y 2, en el caso del área de muestreo se considera 100 cm², siendo un valor constante, a continuación, se determinan los datos que se requieren en el cálculo de cada fórmula.

- **Límite en el producto B (ppm)**

$$L1(ppm) = \frac{1}{SF} * \frac{d}{D}$$

En donde:

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

D=dosis máxima ($\text{g}/\text{día}$) del producto B fabricado luego del A.

SF= factor de seguridad

* Nota: El factor de seguridad depende de la vía de consumo del medicamento, en el caso de los fármacos de forma sólidas, se considera un factor de seguridad de 100-1000 (Salazar, Pujol & Boya, 2007).

- **Límite según la superficie de contacto.**

Se calcula la superficie de contacto total a partir de las dimensiones de los equipos y áreas de trabajo (tabla 1 y 2).

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

En donde:

Tmin= Tamaño de lote mínimo de B (Kg)

S= Superficie de contacto total (cm^2)

- **Límite de aceptación 10 ppm.**

$$LA = \frac{10 \left(\frac{\text{mg}}{\text{Kg}} \right) * TL (\text{Kg}) * SM (\text{cm}^2)}{SE(\text{cm}^2) * V(\text{mL})}$$

En donde:

LA= límite de aceptación

TL= Tamaño de lote

SM= Superficie de muestreo

SE= Superficie de contacto total

V= volumen del solvente utilizado para extraer la muestra (Adaris & Pierre, 2005).

Tabla 2. Equipos y utensilios involucrados en la ruta de fabricación de tabletas de matico en el Laboratorio Neofármaco Cía Ltda

UTENSILLO	EQUIPO
Tamiz # 16	Marmita
Tamiz # 20	Agitador lightnin
Balde de acero inoxidable	Tanque de 80 l (mezclador de tambor alfa)
Jarra de acero inoxidable	Mezclador velox
Jarra plástica	Estufa lukon
Paleta de acero inoxidable	Tableteadora Fette
Paleta plástica	Bombo de recubrimiento
Pala de pesaje del principio activo	Blisteadora W&S
Uniforme 1	Balanza área de naturales
Uniforme 2	Balanza de precisión 1
	Balanza área de pesaje

Realizado por: Guevara, K., 2022.

Tabla 3. Áreas utilizadas en la ruta de fabricación de tabletas de matico en el Laboratorio Neofármaco Cía Ltda.

Área de producción
Área de naturales
Área bombo de recubrimiento
Área Blisteadora W&S
Cabina de pesaje

Realizado por: Guevara, K., 2022.

2.3.6. Técnica de muestreo

Se coloca el hisopo hidratado con etanol al 96% sobre el área de muestreo (placa con área interior de 100cm²) y se moviliza siguiendo las direcciones de la figura 3, girando el hisopo en el cambio de dirección.

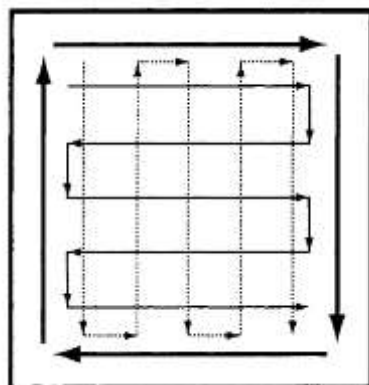


Figura 4. Direcciones de técnica de muestreo. (Neofármaco, 2021)

Para la hidratación del hisopo y disolución de muestra en un volumen conocido, se coloca 10 mL del solvente en un tubo de ensayo y 5mL en otro. En el de 10 mL se coloca el hisopo a

hidratar por 10 min, una vez realizado el muestreo se coloca en el tubo con 5 mL de solvente, se corta la parte sobresaliente del hisopo, se tapa el tubo de ensayo y se sónica por 10 min. Estos pasos se realizan por cada punto de muestreo (Anexo 6), por triplicado. Una correcta manipulación de la muestra consiste en colocar las muestras en una gradilla y en el interior de un cooler para su transporte del área de producción al laboratorio de control de calidad. Se refrigera las muestras hasta evaluarlas en un tiempo máximo de 24 horas.

3.3.7. Método analítico

3.3.7.1. Selectividad

- **Preparación de estándar**

Pesar en la balanza analítica, la cantidad de $0,25 \text{ g} \pm 0.1 \text{ mg}$ a partir del extracto de matico concentrado (imprimir los pesos como registro de datos primarios), transferir a un balón volumétrico de 50 mL para la primera dilución, agregar 25 mL del medio de etanol 96% hasta a la mitad del balón, disolver y aforar con el mismo solvente. Transferir una alícuota de 0,15 mL de la solución madre a un balón volumétrico de 10 mL y aforar con etanol 96%, para llegar a una concentración de 75 ppm.

- **Preparación placebo (excipientes).**

Mezcla seca:

Agregar Avicel, lactosa monohidratada, almidón y luviskol en una funda plástica y agitar en forma convectiva por 5 minutos a 20 rpm.

Aglutinante:

Utilizar agua purificada caliente para diluir propilparabeno, colorante verde menta, polivinilpirrolidona y metil parabeno sódico, la mezcla se revuelve hasta lograr una solución homogénea.

Amasado:

Colocar la mezcla seca en el tambor de una mezcladora y encender el equipo a una velocidad de 1 a 2, posteriormente colocar la mezcla aglutinante poco a poco evaluando contantemente

el punto de escarcha, añadir más agua purificada de ser necesario, repetir el paso de integración de mezcla aglutinante hasta alcanzar el punto de escarcha ideal (parámetro cualitativo según el analista).

Secado:

Tamizar la mezcla obtenida y colocar papel craft en bandejas de acero inoxidable, consecutivamente colocar la mezcla tamizada y extenderlo obteniendo una capa de 1 cm de espesor, colocar en la estufa a 50°C por 10 horas. Analizar el porcentaje de Humedad (2-5%). Posteriormente tamizar el producto y colocar en una funda de plástico.

Preparación de mezcla final:

Colocar en una funda el polvo resultante del proceso de secado y añadir almidón glicolato de sodio, crocarmelose sodium, talco y estearato de magnesio.

- **Preparación placebo cargado**

Pesar 1,66g de placebo y colocar en un balón de 50mL agregar 0,25 g de extracto de matico concentrado y aforar con etanol al 96%.

Tabla 4. Preparación soluciones Selectividad

ENSAYO: VALORACIÓN	PESOS	SOLUCIÓN MADRE	Concentración 75ppm		LECTURA ABSORBANCIA
		Aforo (mL) Sln. madre	Alícuota (mL)	Aforo (mL)	
Estándar	0,25g Extracto de Matico	50mL	0,15 de la sol Madre	10mL	
Placebo Cargado	0,25g Extracto de Matico + 1,66g Preparación Placebo	50mL	0,15 de la sol Madre	10mL	Leer por triplicado Estándar
Placebo	1,66g Preparación Placebo	50mL	0.02mL de la sol Madre	10mL	

Fuente: Informe de Validación de limpieza Matico Tabletas.

Realizado por: Guevara, K., 2022.

Tabla 5. Condiciones de operación

Operación	Condición
Modo	Espectrofotometría
Detector UV- Longitud de Onda	300nm
Celda de Cuarzo	10mm

Fuente: Informe de Validación de limpieza Matico Tabletas.

Realizado por: Guevara, K., 2022.

2.3.7.2. Linealidad

Preparar soluciones para obtener una curva de calibración a 6 niveles con las respuestas de las absorbancias, usando como estándar la preparación de extracto de matico concentrado al 75ppm, para calcular la linealidad del sistema y las muestras para la Linealidad del Método. Intervalo con respecto a la especificación: 33,3% al 266,67% considerando los porcentajes de 33,3%, 66,67%, 100%,133,33%, 200%, 266,67%.

Tabla 6. Relación de Concentración respecto a porcentajes, linealidad

CONCENTRACIÓN (ppm)	PORCENTAJE %
200	266,66%
150	200%
100	133,33%
75	100%
50	66,66%
25	33,33%

Fuente: Informe de Validación de limpieza Matico Tabletas.

Realizado por: Guevara, K., 2022.

- **Linealidad del Sistema**

Preparar una solución stock madre:

Extracto de Matico concentrado: Pesar 0,25 g y colocar en un balón de 50mL, colocar etanol 96% hasta la mitad para diluir y posteriormente aforar con el mismo solvente.

Efectuar las siguientes diluciones:

Tabla 7. Pesos y diluciones Linealidad del Sistema

ESTÁNDAR	DILUCIONES		CONCENTRACION (g/mL)	CONCENTRACION (ppm)	LECTURA DE ABSORBANCIA
	Medio de Dilución: Fase Móvil				
	Alícuota (mL)	Aforo (mL)			
Extracto de Matico concentrado	0,4	10	0,0002	200	Por triplicado
	0,3	10	0,00015	150	
	0,2	10	0,0001	100	
	0,15	10	0,000075	75	
	0,1	10	0,00005	50	
	0,05	10	0,000025	25	

Fuente: Informe de Validación de limpieza Matico Tabletas.

Realizado por: Guevara, K., 2022.

- **Linealidad del Método**

Preparar una solución stock madre:

- Placebo cargado: Pesar 0,25 g de extracto de matico, + 1,66g de placebo agregar etanol al 96% hasta la mitad, disolver y aforar a 50mL con etanol al 96%.
- Efectuar las siguientes diluciones:

Tabla 8. Pesos y diluciones, linealidad del método.

ESTÁNDAR	DILUCIONES		CONCENTRACION (g/mL)	CONCENTRACION (ppm)	LECTURA DE ABSORBANCIA
	Medio de Dilución: Fase Móvil				
	Alícuota (mL)	Aforo (mL)			
Extracto de Matico concentrado	0,4	10	0,0002	200	Por triplicado
	0,3	10	0,00015	150	
	0,2	10	0,0001	100	
	0,15	10	0,000075	75	
	0,1	10	0,00005	50	
	0,05	10	0,000025	25	

Fuente: Informe de Validación de limpieza Matico Tabletas.

Realizado por: Guevara, K., 2022.

Nota: Las alícuotas se toman de la solución madre y se aforan con etanol al 96%.

Rango: Se efectuará el tratamiento de datos con los resultados de linealidad.

2.3.7.3. LOD y LOQ

Para determinar el límite de detección y cuantificación se debe emplear los resultados obtenidos en la curva de calibración del ensayo de linealidad, con las 6 muestras a una concentración de 200 ppm, 100 ppm, 75 ppm, 50ppm, 25ppm. Asumiendo que el 100% de la curva de calibración corresponde a 75 ppm (el mismo que es el límite máximo de extracto de matico posterior a la limpieza). La desviación estándar residual de la línea de regresión o la desviación estándar del intercepto puede ser utilizada como desviación estándar. Para simplificar se emplea la siguiente ecuación.

$$LOD = \frac{3\sigma}{S'}$$

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S'}$$

En donde Sigma es la desviación estándar para la curva de calibración o el error estándar del intercepto y S es la pendiente.

Con los resultados estadísticos obtenidos se procede a confirma el límite de detección y cuantificación a nivel empírico, para lo cual se preparan muestras cuya concentración sea igual a dichos límites, esta determinación se debe realizar por triplicado.

2.3.8 Análisis fisicoquímico de muestras

Preparación de estándar

Pesar en la balanza analítica, la cantidad de $0,25 \text{ g} \pm 0,25 \text{ g}$ a partir del estándar de referencia, extracto de matico concentrado transferir a un balón volumétrico para la primera dilución, agregar el medio de dilución indicado hasta a la mitad del balón, disolver y aforar. Transferir una alícuota a un balón volumétrico y aforar con medio de dilución determinado.

Tratamiento de la muestra

Se coloca cada solución en una jeringa nueva de 10 mL y se para por un filtro jeringa de 0,45 µm, la solución filtrada se coloca en una celda de cuarzo de 10 mm previamente lavada y seca, finalmente se analiza por espectrofotometría a 300 nm, utilizando etanol al 96% como blanco, además los resultados se representarán en concentración de extracto de matico concentrado ppm (USP, 2007).

2.3.9. Determinación de la carga microbiológica.

2.3.9.1. Medio de cultivo

Se sigue la normativa de preparación de medios descrito en la (ISO., 2015) por lo que se realiza la preparación de medios de cultivo según las especificaciones establecidos en los medios. El agua purificada a utilizar debe poseer las características de conductividad y esterilidad adecuados, siendo menores a $5 \frac{\text{ufc}}{\text{cm}}$ y $100 \frac{\text{ufc}}{\text{mL}}$. Posteriormente, se coloca el agua en la cantidad calculada, correspondiente al peso de medio estimado, en un frasco con tapa estéril y se pesa el medio en polvo en las condiciones adecuadas. Agar PCA (23,5 g en 100mL de agua), Agar Saboraud (65,5 g en 100mL), Agar Mac Conkey (50g en 100 mL).

Se coloca el medio en el frasco y se mezcla hasta obtener un medio homogéneo, caso contrario se somete el frasco a agua caliente a 60°C. Posteriormente se ajusta el pH con HCl 1M o con NaOH 1M, luego se coloca la cinta testigo en la tapa de los frascos y se autoclava a 121°C, 15 PSI de presión por un tiempo de 15 min.

Una vez autoclavados los medios, utilizar la cámara de flujo Laminar para verter en cajas bipetri, empacar y colocar en refrigeración hasta la siembra.

2.3.9.2. Muestreo Microbiológico.

Para el proceso de muestreo microbiológico se coloca 10 mL de solución estéril en un tubo de ensayo, se transportan los tubos necesarios por cada punto crítico de cada equipo a muestrear en un cooler, con hisopos previamente esterilizados. Se coloca un patrón de acero inoxidable de 100 cm² sobre la superficie a muestrear, a continuación de pasa el hisopo siguiendo las direcciones descritas en la técnica de muestreo. Luego, se coloca cada hisopo

en un tubo de ensayo con solución estéril, que se encuentra previamente etiquetado, por triplicado por cada muestra. Para la manipulación y transporte de las muestras, se coloca los tubos de ensayo en una gradilla, en el interior de un cooler, con hielo, para movilizar del área de producción al laboratorio de control de calidad. Se refrigera las muestras hasta evaluarlas en un tiempo máximo de 24 horas.

Posteriormente, se trasladan las muestras a la cámara de flujo laminar, para la siembra, en primer lugar, se etiquetan las placas colocando la siguiente información: agar, fecha y punto de muestra, se homogeniza la muestra y se inocula en cajas Petri, finalmente se colocan en una incubadora manteniendo las condiciones de incubación según se especifica en la tabla 9.

Tabla 9. Condiciones de incubación

Microorganismo	Condiciones de incubación		
	Medio de cultivo	Temperatura (°C)	Tiempo
Aerobios Totales	Agar PCA	30-35	3-5 días
Mohos-levaduras	Agar sabouroud	20-25	5-7 días
<i>Escherichia coli</i>	Agar MacConkey	30-35	18-72 horas

Fuente: (USP, 2007)

Las especificaciones que se describen a continuación se basan en las normativas internacionales **ISO 14644**, en donde las muestras microbiológicas serán recolectadas una vez finalizada la limpieza de todo el tren de fabricación, durante un lapso de 7 días; tiempo de vigencia de la limpieza, se realiza para confirmar la selección y la eficacia de desinfectantes y detergentes.

2.3.9.3. Criterios de Aceptación Microbiológicos.

Se estima el número de unidades formadoras de colonias según la tabla 10.

Tabla 10. Especificaciones microbiológicas: Niveles de microorganismos

Grado/Clasificación De Área	Microorganismo	Muestreo de Aire (cfu/m³)	Placas Petri (Diámetro 90mm) cfu/4 horas	Placa de Contacto (diámetro 55mm) cfu/placa
D (Cabina)	Aerobios mesófilos	<200	<100	<50
	Mohos y levaduras	<200	<100	<50
	Patógenos	Ausente	Ausente	Ausente
Superficies de Cabina y Equipos	Aerobios mesófilos		<200 ufc/ 100cm ²	
	Mohos y levaduras		<200 ufc/ 100cm ²	
	Patógenos		Ausente	

Fuente: (USP, 2007)

2.3.10. Análisis de los datos.

Los datos obtenidos tanto por muestreo fisicoquímico como por muestreo microbiológico no deben superar los criterios y límites de aceptación estimados (**Bismuth & Neumann, 2019**), de tal forma que se comprobará la efectividad del método de limpieza aplicado en los equipos y áreas involucrados en la ruta de fabricación de tabletas de matico en el laboratorio Neofármaco del Ecuador, de esta forma se evita la contaminación cruzada de extracto de matico en otros productos elaborados por la empresa farmacéutica.

2.3.11. Optimización del proceso de limpieza.

En la optimización del proceso, evaluar la variable respuesta de cantidad de analito en mg, cuantificado en los puntos críticos 6.4, 7.8, 7.9, 8.2, 8.4, variando dos factores principales como la concentración de alcohol al 75%, 85%, 95%; y la concentración de detergente al 25%, 50% y 75%, como se observa en la tabla 11.

Tabla 11. Niveles considerados en cada factor

N°	FACTOR	VALOR DE CONDICIÓN ESTABLECIDA EN EL MÉTODO	NIVEL		
			Bajo	Medio	Alto
1	A: Concentración de alcohol (% V/V)	75%	75%	85%	95%
2	B: Concentración de detergente (% V/V)	25%	25%	50%	75%

Fuente: (Statgraphics Centurion, 2021)

Tabla 12. Ensayos de optimización del proceso de limpieza.

Ensayo	A: Concentración de alcohol (% V/V)	B: Concentración de detergente (% V/V)
1	75%	25%
2	75%	50%
3	75%	75%
4	85%	25%
5	85%	50%
6	85%	75%
7	95%	25%
8	95%	50%
9	95%	75%

Fuente: (Statgraphics Centurion, 2021)

CAPÍTULO III.- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Análisis y discusión de los resultados

3.1.1. Análisis de trazas de detergente

Tabla 13. Análisis de trazas de detergente, pH y conductividad

Parámetro	pH	Conductividad ($\mu\text{s}/\text{cm}^2$)
Criterio	5-7,3	0,3-15
Resultado	6,42 \pm 0,033%	5,32 \pm 0,180%

Realizado por: Guevara, K., 2022.

Tabla 14. Datos de Análisis de trazas de detergente.

Equipo	pH	Conductividad ($\mu\text{s}/\text{cm}^2$)
Marmita	6,083	6,33
Agitador Lightnin	6,204	6,97
Tanque de 80 L	6,312	4,291
Mezclador Veñpx	6,434	4,291
Estufa Lukon	6,556	5,672
Tableteadora fette	6,678	5,783
Bombo de recubrimiento	6,791	4,394
Balde de acero inoxidable	6,312	4,896
Jarra de acero inoxidable	6,413	5,987
Jarra plástica	6,514	4,778
Promedio	6,42	5,32
RSD	0,033	0,180

Realizado por: Guevara, K., 2022.

En las tablas 13 y 14, se puede observar los valores en promedio de la conductividad y pH de muestras del enjuague realizado al finalizar el último ciclo del proceso de limpieza de los diferentes equipos de la ruta de fabricación de tabletas de matico, los resultados se encuentran

entre los valores del criterio establecido, por lo que se demuestra que no existe presencia de restos del jabón empleado para la limpieza.

3.1.2. Caracterización del hisopo o swab.

3.1.2.1. Capacidad de absorción

Tabla 15. Datos de capacidad de absorción del hisopo

Número de hisopo	Peso del hisopo hidratado (g)	Peso del hisopo seco (g)	Capacidad de absorción (mL)
1	1,3230	1,0509	0,3401
2	1,3556	1,0503	0,3816
3	1,3636	1,0521	0,3893
4	1,3265	1,0469	0,3495
5	1,3396	1,0456	0,3675
6	1,3285	1,0497	0,3493
7	1,3397	1,0497	0,3625
8	1,3402	1,0491	0,3638
9	1,3854	1,0532	0,0,3750
10	1,3854	1,0532	0,4152
		Promedio	0,3693
		RSD	5,68%

Realizado por: Guevara, K., 2022.

- **Cálculo demostrativo**

Datos:

ρ (etanol)=0,80 g/ml

$$\text{Capacidad de Absorción} = \frac{\text{Peso hisopo hidratado (g)} - \text{Peso hisopo seco (g)}}{\rho \text{ (etanol)}}$$

$$\text{Capacidad de Absorción} = \frac{1,3230 \text{ g} - 1,0509 \text{ g}}{0,80 \text{ g/mL}}$$

Capacidad de Absorción = 0,3401 mL

En la tabla 15 se presenta los resultados de capacidad de absorción del hisopo el cual es de 0,3401 mL siendo un valor de suficiente de saturación o hidratación, de esta manera incrementa el efecto solvente en el proceso de remoción de trazas (Bismuth & Neumann, 2019).

3.1.2.2. Interferencia del Hisopo

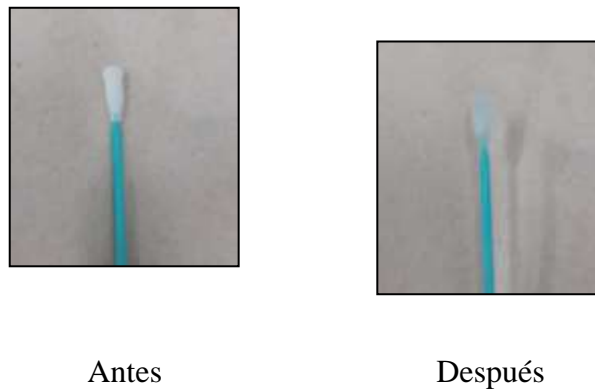


Figura 5. Cambio de coloración del hisopo posterior a la sonicación. **Realizado por:** Guevara, K., 2022.

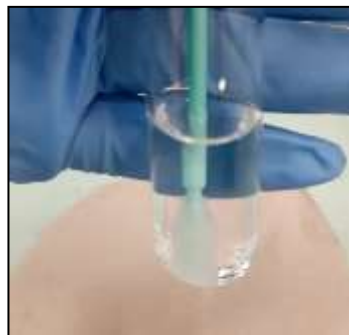


Figura 6. Observación de fibras del hisopo. **Realizado por:** Guevara, K., 2022.

Como se observa en la figura 5, no se observa cambio de coloración del hisopo luego de la hidratación y sonicación, La durabilidad del hisopo no muestra fibras de sedimentación o desprendimientos durante el hisopado, como se refleja en la figura 6, estos resultados concuerda con lo establecido por (Bismuth & Neumann, 2019).

La absorbancia del hisopo en la solución estándar a longitud de onda de 300nm en Etanol (blanco) es de 0,053, este dato se aplica en la corrección de absorbancia de las muestras. Esta pequeña interferencia en la lectura por espectrofotómetro puede ser causada por partículas en la solución o desprendimiento de fibras o material del hisopo (Rezquellah, 2015).

3.1.2.3. Test de recuperación

Tabla 16. Resultados del cálculo de Prueba de Recuperación.

Muestras	Absorbancia	Absorbancia Real	Cantidad Real (g)	Porcentaje de recuperación
Muestra 1	0,151	0,098	$3,24 * 10^{-4}$	92,45
Muestra 2	0,158	0,105	$3,47 * 10^{-4}$	99,06
Muestra 3	0,157	0,104	$3,43 * 10^{-4}$	98,11
Muestra 4	0,156	0,103	$3,40 * 10^{-4}$	97,17
Muestra 5	0,154	0,101	$3,33 * 10^{-4}$	95,28
Muestra 6	0,156	0,103	$3,40 * 10^{-4}$	97,17
Promedio				96,54
RSD				0,02

Realizado por: Guevara, K., 2022.

- **Cálculo demostrativo**

Cálculo de concentración real

Muestra 1

$$A_{\text{real}} = A_{\text{muestra}} - A_{\text{hisopo}}$$

$$A_{\text{real}} = 0,151 - 0,053$$

$$A_{\text{real}} = 0,098$$

Concentración Real

$$C_R = \frac{A_M}{A_{std}} * C_{std}$$

$$C_R = \frac{0,098}{0,106} * 7 * 10^{-5} \frac{g}{mL}$$

$$C_R = 6,47 * 10^{-5} \frac{g}{mL}$$

Cantidad Real (g)

Cantidad Real = Concentración Real * Volumen de muestra

$$\text{Cantidad Real} = 6,47 * 10^{-5} \frac{g}{mL} * 5 \text{ mL}$$

$$\text{Cantidad Real} = 3,24 * 10^{-4} \frac{g}{mL}$$

Cálculo porcentaje de recuperación

$$\%R = \frac{\text{Cantidad Real}}{\text{Cantidad Teórica}} * 100$$

$$\%R = \frac{3,24 * 10^{-4} g}{3,5 * 10^{-4} g} * 100$$

$$\%R = 92,45\%$$

$$\%R^- = 96,54\%$$

Como se puede observar en la tabla 16, la capacidad de recuperación del extracto de matico concentrado, es de 96,54%, el cual al ser un valor mayor al 70% se considera aceptable, ya que evidencia que el muestreo por hisopado es capaz de recuperar un alto porcentaje de trazas de extracto de matico presente en las superficies de contacto de los equipos muestreados (Bismuth & Neumann, 2019).

3.2. Método Analítico

3.2.1. Determinación del límite de aceptación

- **Límite en el producto B (ppm)**

$$L1(ppm) = \frac{1}{SF} * \frac{d}{D}$$

$$L1(ppm) = \frac{1}{1000} * \frac{0,05g/día}{0,1 g/día}$$

$$L1(\text{ppm}) = 0,0005 \text{ g/g} * \frac{1*10^6 \mu\text{g}}{1\text{g}} = 500 \text{ ppm}$$

Tabla 17. Cálculo del límite de aceptación fisicoquímico

Equipo	Superficie de contacto (cm ²)	Límite (L2) Límite en el control de superficies (μg/cm ²)	LA Límite de aceptación (ppm)
Marmita	57096,87	246	152,25
Tanque de 80L	21053,77	667,15	412,90
Agitador Lightnin	287,4558	4886,72	30242,079
Mezclador Velox	5256,77	2672,01	1653,7267
Estufa Lukon	115572,1	121,53	75,21
Tableteadora Fette	620,261	22645,56	14015,489
Bombo de recubrimiento	17907,26	784,38	485
Blisteadora W&S	5906,74	2377,98	1471,75

Realizado por: Guevara, K., 2022.

- **Cálculo demostrativo**

Límite (L2) Límite en el control de superficies

Datos:

Tmin= 28,09 Kg

S (Superficie de contacto Marmita)=57096,87 cm²

$$L2(\mu\text{g}/\text{cm}^2) = L1(\text{ppm}) * \frac{T \text{ min}}{S} * 1000$$

$$L2(\mu\text{g}/\text{cm}^2) = 500 \frac{\mu\text{g}}{\text{g}} * \frac{28,09 \text{ Kg}}{57096,87 \text{ cm}^2} * \frac{1000\text{g}}{1\text{Kg}}$$

$$L2(\mu\text{g}/\text{cm}^2) = 246 \frac{\mu\text{g}}{\text{cm}^2}$$

LA Límite de aceptación

Datos:

TL= 43,46 Kg

SM=100 cm²

SE=57096,87 cm²

V= 5 mL

$$LA = \frac{10 \left(\frac{mg}{Kg} \right) * TL (Kg) * SM (cm^2)}{SE(cm^2) * V(mL)}$$
$$LA = \frac{10 \left(\frac{mg}{Kg} \right) * 43,46 Kg * 100 cm^2}{57096,87 cm^2 * 5 mL} * 1000 \frac{\mu g}{mg}$$
$$LA = 152,25 \frac{\mu g}{mL}$$

Los límites de aceptación se establecieron tomando en cuenta que luego de fabricar un producto A, se realiza el proceso de limpieza para fabricar el producto B, la cantidad máxima del analito contaminante presente en el producto B, no representa un riesgo. El límite de la presencia de analito en el producto siguiente y limite en control de superficies es una manera de expresar el límite relacionado con la dosis terapéutica. Además, se considera el cálculo de límite del límite de aceptación (10 ppm), debido a que es una medida del riesgo que varía con las formas de dosificación y las vías de administración. Para garantizar la elección del límite más estricto, se selecciona el valor más bajo, el cual es de 75 ppm, tabla 17 (Rezquellah, 2015).

- **Selectividad**

Tabla 18. Resultados de Selectividad

REPLICA	RESPUESTA DEL ESTÁNDAR (Extracto de Matico Concentrado)		RESPUESTA DEL PLACEBO CARGADO		% DISCREPANCIA	CRITERIO O Discrepancia < 5%
	Absorbancia	Concentración (ppm)	Absorbancia	Concentración (ppm)		
1	0,127	73,8372093	0,13	75,58139535	2,362	Cumple
2	0,128	74,41860465	0,131	76,1627907	2,344	Cumple
3	0,129	75	0,131	76,1627907	1,550	Cumple
PROMEDIO	0,1280	74,4186	0,1307	75,9690	2,085	Cumple
DESVEST	0,001000	0,581395	0,000577	0,335669	0,463	
RSD	0,781250	0,781250	0,441850	0,441850	22,224	

Fuente: Informe Validación Método Analítico Trazas Matico.

Realizado por: Guevara, K., 2022.



Figura 7. Barrido de solución Placebo. **Fuente:** Informe Validación Método Analítico Trazas Matico. **Realizado por:** Guevara, K., 2022.

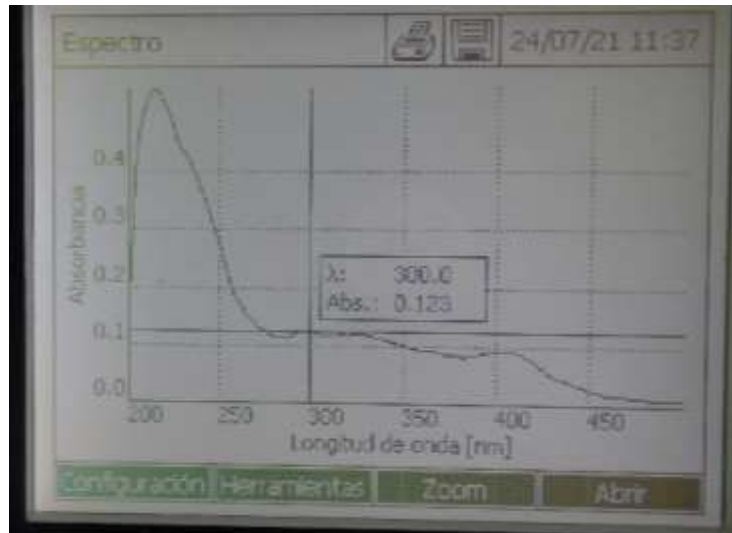


Figura 8. Barrido de solución Placebo Cargado. **Fuente:** Informe Validación Método Analítico Trazas Matico. **Realizado por:** Guevara, K., 2022..

En la tabla 18, se muestran los resultados del parámetro de selectividad, luego de evaluar las respuestas del estándar y placebo cargado se obtuvo un valores de absorbancia de 74,4 y 75,9 ppm, respectivamente, alcanzando un valor de 2,085 en porcentaje de discrepancia, por lo que no existe una diferencia significativa entre las respuestas del estándar y el placebo cargado, por lo que, el placebo (excipientes) no representa una interferencia en la lectura del extracto de matico, a través del método utilizado, como se observa en la figura 7 y 8, la respuesta del instrumento frente al placebo es nula a 300 nm.

- **Linealidad**

Tabla 19. Resultados de los criterios de linealidad.

CRITERIOS	Linealidad del	
	Sistema (Extracto de Matico Concentrado)	Linealidad del Método (Placebo Cargado)
COEFICIENTE DE CORRELACIÓN ($r \geq 0.99$)	0,997945	0,99961
COEFICIENTE DE DETERMINACIÓN ($r^2 \geq 0.99$)	0,995894	0,99922
COEFICIENTE DE VARIACIÓN DE LOS FACTORES RESPUESTA ($\leq 5\%$)	1,2033	0,5375
PENDIENTE ($b \neq 0$)	b=0,793556	b=0,794752
INTERCEPTO Y TEST DE PROPORCIONALIDAD ($a = 0$)	y = -3,01641 + 0,793556*x	y= -4,66171 + 0,794752*x

Fuente: Informe Validación Método Analítico Trazas Matico.

Realizado por: Guevara, K., 2022.

La tabla 19 muestra los resultados de los criterios de linealidad, como primer parámetro se encuentra el coeficiente de correlación con valores de 0,997 y 0,999 en la evaluación del estándar (sistema) y placebo cargado (método), respectivamente, lo que demuestra que el método es lineal al cumplir con un $r > 0,99$, correlacionándose la concentración de extracto de matico concentrado con la absorbancia como respuesta del instrumento. El coeficiente de determinación resultó en valores de 0,995 y 0,999, complementando el anterior criterio, determina una alta significancia estadística, al relacionarse la concentración (ppm) con la concentración % Teórica.

A continuación, se determina el coeficiente de variación de los factores respuesta el cual debe ser menor al 5%, presenta valores de 1,2033% para el estándar y 0,5375 para el placebo cargado, lo cual determina que el método es lineal debido a que los factores se encuentran cerca al valor de la pendiente y entre ellos no existe gran diferencia. En el caso de la pendiente, como se observa en la tabla 16, se obtuvieron valores de 0,793556 (estándar) y 0,794752 (placebo cargado), cumple con el criterio de $b \neq 0$. Caso contrario al intercepto el cual debe ser igual a 0, en donde determina su paso por el origen, en este caso existe variación siendo de -3,01641 y -4, 66171, el cual se considera como error aleatorio. Por lo que, la regresión lineal demuestra la relación entre las variables de absorbancia y concentración tanto en las respuestas del estándar como del placebo cargado.

LOD y LOQ

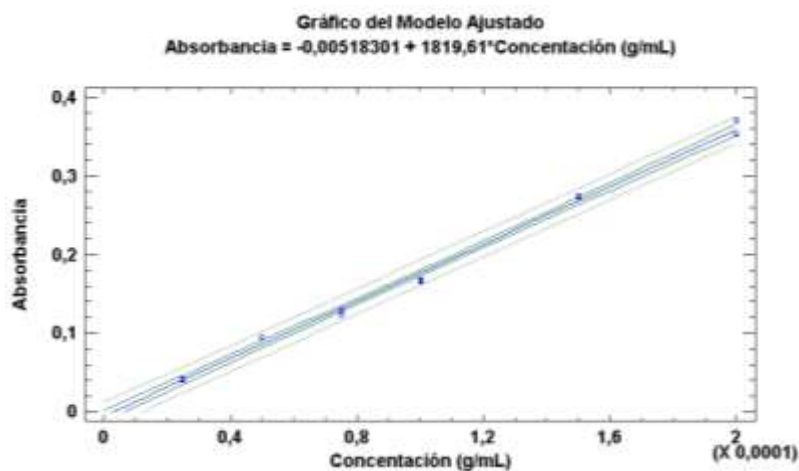


Figura 9. Modelo lineal de la relación Absorbancia y Concentración (g/mL).

Realizado por: Guevara, K., 2022..

Tabla 20. Coeficientes de LOD y LOQ Extracto de Matico Concentrado.

	Mínimos Cuadrados	Estándar	Estadístico	
Parámetro	Estimado	Error	T	Valor-P
Intercepto	-0,00518301	0,00339974	-1,52453	0,1469
Pendiente	1819,61	29,2152	62,2828	0,0000

Realizado por: Guevara, K., 2022..

Cálculo LOD

$$LOD = \frac{3\sigma}{S'}$$
$$LOD = \frac{3(0,003)}{(1819,61)}$$
$$LOD = 5,44 * 10^{-6} mg/mL$$

Cálculo LOQ

$$LOQ = \frac{10\sigma}{S'}$$
$$LOQ = \frac{10(0,003)}{1819,61}$$
$$LOQ = 1,64 * 10^{-5} mg/mL$$

3.1.2.4. Análisis de muestras

3.1.2.4.1. Resultados del análisis fisicoquímico. Validación de limpieza de la ruta de fabricación de tabletas de matico.

Tabla 21. Valores del límite y resultado de trazas de extracto de matico en mg.

Parámetro	Límite fisicoquímico (mg/mL)	Límite fisicoquímico (mg)	Resultado del análisis de trazas (mg)
Valor	0,075	0,375	0,08

Realizado por: Guevara, K., 2022.

Tabla 22. Valores de la concentración de trazas de extracto de matico concentrado

Promedio	0,000796633
Desviación Estándar	0,003197634
Varianza	1,02249E-05
Valor Máximo	0,02879
Valor Mínimo	0

Realizado por: Guevara, K., 2022.

Los equipos y materiales empleados fueron evaluados inicialmente por una inspección visual cumpliendo con la misma, Anexo 1. Según la OMS, después del proceso de limpieza aplicado, no debe existir algún residuo, partícula o resto, que sea visible al ojo humano en la superficie de los mismos, por lo que, este criterio es primordial antes de realizar el muestreo por hisopado (OMS, 1996).

En la tabla 21, se observa un resumen de los resultados establecidos en el Anexo 3, en donde se observa que los 110 puntos de muestreo, identificados como puntos críticos, en la validación de limpieza de la ruta de fabricación de tabletas de matico (Anexo 6) no presentan una cantidad de trazas de extracto de matico superior al límite determinado de 0,75 mg, presentaron un promedio de 0,0007 mg, desviación estándar de 0,003, además, los datos presentan una variabilidad de $1,0224 \times 10^{-5}$, demostrando que la dispersión de los datos es mínima, en un rango de 0 a 0,028 mg.

Por otra parte, se puede evidenciar que el punto de muestreo con mayor cantidad de analito presente es el 4.3, el cual corresponde a la cara 3 del aspa perteneciente al agitador lightnin. A pesar de ello, cumplen con el criterio determinado, de esta forma se comprueba que no existe una cantidad de trazas que represente un riesgo significativo en la producción de otros productos, ya que no superan el límite estimado.

3.1.2.4.2. Análisis de la determinación de la carga microbiana

El criterio de análisis microbiológico es fundamental para determinar la eficiencia del proceso de limpieza, por lo que es un parámetro en la validación de limpieza. Estos análisis son exigidos principalmente por la OMS, para determinar y conocer la presencia de microorganismos principalmente en las superficies donde el producto tiene contacto directo. El Anexo 3, evidencia los valores del muestreo microbiológico en los diferentes puntos de muestreo, en los 110 puntos los resultados se encuentran por debajo de los límites de <200 ufc/cm², tanto para aerobios mesófilos, mohos y levaduras, además de ausencia de patógenos. El punto que presentó mayor carga microbiológica fue el 6.3 cuerpo de la cubierta protectora del mezclador velox, sin embargo, una adecuada desinfección con alcohol en el área permitirá que la superficie se encuentre libre de contaminación microbiana.

3.1.2.4.2. Evaluación y Optimización del proceso de limpieza

Tabla 23. Resumen de resultados optimización de proceso de limpieza.

Ensayo	A: Concentración de alcohol (% V/V)	B: Concentración de detergente (% V/V)	PROMEDIO (Cantidad de analito mg)	DESVIACIÓN ESTÁNDAR
1	0,75	0,25	0,00929867	0,01213429
2	0,75	0,5	0,00157362	0,00235422
3	0,75	0,75	0,00679518	0,00983025
4	0,85	0,25	0,00132327	0,00139434
5	0,85	0,5	0,00970995	0,0140756
6	0,85	0,75	0,00810057	0,00715634
7	0,95	0,25	0,00970995	0,01263608
8	0,95	0,5	0,00030399	0,00067975
9	0,95	0,75	0,00704553	0,0063347

Realizado por: Guevara, K., 2022.

En la tabla 23 se observa un resumen de los valores obtenidos en mg de trazas de extracto de matico posterior a la limpieza aplicando 9 ensayos en donde se variaron 2 factores, la concentración de alcohol (%v/v) y la concentración de detergente en agua (%v/v). Se muestrearon 5 puntos principales, considerados críticos por su difícil acceso y limpieza. El ensayo 8, empleando alcohol al 95% y detergente al 50%, resulto ser el más eficiente al presentar una cantidad de trazas de extracto de matico de 0,0003 mg, por otra parte, los ensayos 5 y 7 presentaron mayor concentración del analito, por lo que no se pueden aplicar estas condiciones en el procedimiento de limpieza. Por otra parte, en el anexo 6, el punto 7.9 del ensayo 5, correspondiente a la esquina 2 de la bandeja de la estufa Lukon posee 0,03 mg de trazas de extracto de matico detectadas superando a los demás puntos evaluados.

CAPÍTULO IV. CONCLUSIONES Y RECOMENDACIONES

4.1. Conclusiones

- A través del presente trabajo se validó el método de limpieza del tren de fabricación de un lote de tabletas de Matico, en el Laboratorio Neofármaco del Ecuador Cía LTDA., al cumplir con los criterios de aceptación de análisis de detergente, pruebas fisicoquímicas y microbiológicas.

-El porcentaje de recuperación del extracto de matico a través de la técnica de hisopado es del 96,54%, por lo cual, al alcanzar una capacidad de recuperación del analito mayor al 70%, es aceptable para emplear el método de muestreo estimado, en el proceso de validación de limpieza de manera fiable.

-EL análisis de detergente determinó que no existen residuos de este, en el agua del último ciclo de enjuague, recogida de la superficie de los equipos y utensilios. En el caso del análisis fisicoquímico, no se superó el límite de aceptación estimado de 75 ppm, siendo de 0,08 mg de trazas de extracto de matico en los 110 puntos críticos identificados. Los resultados del análisis microbiológico cumplieron con los criterios de la USP, debido a que no superan las 200 UFC/cm².

-El proceso de limpieza estudiado es efectivo y eficaz, ya que alcanza el resultado esperado, el cual es cumplir con los diversos criterios de aceptación y es eficiente debido a que alcanza este resultado con el coste mínimo en el tiempo previsto.

El método analítico utilizado en el análisis de trazas de extracto de matico es selectivo al lograr un porcentaje de discrepancia de 2,085%, por lo que la lectura de los excipientes del placebo no representa una interferencia en la lectura del extracto de matico concentrado. El método se considera lineal al cumplir con los criterios de coeficiente de relación ($r \geq 0.99$), coeficiente de determinación ($r^2 \geq 0.99$), coeficientes de variación de factores respuesta ($\leq 5\%$) y ecuación de la recta en donde $b \neq 0$.

4.2. Recomendaciones

- Al final el último ciclo de limpieza recoger el agua de enjuague en tubos de ensayo, antes de desechar el agua y dejar secar el equipo, por lo que se debe acompañar a los operarios o personas encargadas de la limpieza de los equipos, en la última parte del proceso de limpieza, además realizar inspección visual en las superficies limpias.
- Realizar el muestreo microbiológico lo más pronto después de que se haya finalizado el proceso de limpieza, con el objetivo de evitar la contaminación de las superficies.
- Se podría abordar la metodología de investigación aplicando cromatografía de alta resolución (HPLC) con la finalidad de comparar los resultados y estudiar la variación de resultados.
- La parte metodológica se debe realizar con precaución, y garantizar que las muestras no se contaminen con partículas del ambiente, fibras, etc., debido a que puede contaminar la muestra en el caso de análisis microbiológico y dar resultados erróneos en la lectura de muestras fisicoquímicas.
- Se invita a la facultad y empresas a relacionarse para realizar más investigaciones de este tipo, con la finalidad de conocer las necesidades empresariales que se pueden solventar con la colaboración conjunta.

C. MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias Bibliográficas

Adaris, L., & 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), 5–12. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75152005000300010

Agencia española de medicamentos y productos sanitarios. (2015). *Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Capítulo 5: Producción*. 3–4. <https://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/reqBasicosMed/capitulo-5.pdf?x25057>

Agencia Española de Medicamentos y productos Sanitarios. (2012). *Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Capítulo 1. Sistema de calidad Farmacéutico*. https://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/reqBasicosMed/04_capitulo-1b.pdf

Andrade, J., & Murillo, M. (2019). “*EVALUACIÓN DE LA ACTIVIDAD ANTIINFLAMATORIA DE Aristeguietia glutinosa EN RATONES Mus musculus.*” <http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/13085/1/56T00893.pdf>

Arizaga, D., & Vinuesa, D. (2015). Validación de limpieza se equipos utilizados en la producción de Ácido Ascórbico y Ácido Fólico–forma farmacéutica polvo para la suspensión oral en Ginsberg Ecuador S. A. mediante análisis de trazas. [ESCUELA SUPERIOR POLITÉCNICA DE CHIMBORAZO]. In *Facultad de Ciencias: Vol. Bachelor*. http://dspace.esPOCH.edu.ec/bitstream/123456789/4411/1/56T00555_UDCTFC.pdf

Barra, R. (2012). *ESTUDIO DE LAS NECESIDADES Y PROPUESTAS PARA LA OBTENCIÓN DE CONDICIONES PARA LLEVAR A CABO LA VALIDACIÓN DE*

LIMPIEZA DEL ÁREA DE BETALACTÁMICOS [Universidad Austral de Chile].

<http://cybertesis.uach.cl/tesis/uach/2012/fcb2681e/doc/fcb2681e.pdf>

Bismuth, G., & Neumann, S. (2019). CLEANING VALIDATION : A practical approach.

CPC PRESS, 1, 30–55. <https://www.routledge.com/Cleaning-Validation-A-Practical-Approach/Bismuth-Neumann/p/book/9780367398927>

FDA. (1993). *Validación de procesos de limpieza (7/93)*. <https://www.fda.gov/validation-cleaning-processes-793>

Fiallos, M. (2018). *Desarrollo y validación del método analítico para la determinación del marcador fisicoquímico del extracto de Aristeguietia glutinosa LAM, utilizado en el producto "Matico del Dr. Peña" tabletas en el Laboratorio Neofármaco CIA, LTDA.* [Escuela Superior Politécnica de Chimborazo]. <http://dspace.espoch.edu.ec/bitstream/123456789/8886/1/56T00776.pdf>

Haider, S., & Asif, E. (2010). Cleaning Validation Manual: A Comprehensive Guide for the Pharmaceutical and Biotechnology Industries. *New York -USA: Taylor & Francias Group, 1*, 37–42. <https://baixardoc.com/documents/cleaning-validation-manual-a-comprehensive-guide-for-thepharmaceutical-and-biotechnology-industries-5c4388d77b268>

Health Canada. (2021). *Cleaning validation guide (GUI-0028) - Canada.ca.*

<https://www.canada.ca/en/health-canada/services/drugs-health-products/compliance-enforcement/good-manufacturing-practices/validation/cleaning-validation-guidelines-guide-0028/document.html>

ISO., O. I. de N.-. (2015). *Microbiología de los alimentos para consumo humano, alimentación animal y agua (UNE-EN ISO 11133)*. <https://www.une.org/encuentra-tu-norma/busca-tu-norma/norma/?c=N0065038>

Justin, T. (2001). UV-VIS Spectroscopy. *Methods*, 28(1), 4–13.

[https://doi.org/10.1016/S1046-2023\(02\)00204-9](https://doi.org/10.1016/S1046-2023(02)00204-9)

LeBlanc, D. A. (2000). Validated cleaning technologies for pharmaceutical manufacturing.

In *Validated Cleaning Technologies for Pharmaceutical Manufacturing*.

<https://doi.org/10.1201/b14410>

Ltda, L. N. del E. C. (2021). *Protocolo validación de limpieza de la ruta de fabricación de tabletas de Matico del Dr. Peña*.

McLaughlin, Zisman.M.A., & . (1999). Aqueous Cleaning Handbook. *Soldering & Surface Mount Technology*, 11(3). <https://doi.org/10.1108/ssmt.1999.21911cae.001>

Molzon, J., Bezerra, A., Avila, S., Dasereau, F., McCaul, S., Jodoin, L., Villagran, E., Luis Aguilar, J., de Pinto, N., María Morales, R., García, S., Venezuela, C., Castejón, E., Benaim, M., Fifarma, V., Vega, M., Manager, Q., Araujo, C., Elmor, L., ... Actuales, M. (2000). *GRUPO DE TRABAJO EN BUENAS PRÁCTICAS DE MANUFACTURA MIEMBROS**. https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2014/12/II-D.2.1-EST-01-A4_Guía-de-Verificación-de-BPM-RED-PARF.pdf

Munro, G. (2017). ICH Q7 Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients (APIs). In *ICH Quality Guidelines* (pp. 509–534). <https://doi.org/10.1002/9781118971147.ch19>

Nash, R. A., & Wachter, A. H. (1993). Pharmaceutical Process Validation: An International Third Edition, Revised and Expanded. *Library of Congress Cataloging-in-Publication Data*, 2, 25–27. <http://www.dekker.com>

Neofármaco. (2021). *Quiénes somos - Laboratorio Neofarmaco Cia. Ltda*. <https://neofarmaco.com/quienes-somos/>

Nishihara, E. (2014). *VALIDACION DE LIMPIEZA*. http://www.digemid.minsa.gob.pe/UpLoad/UpLoaded/PDF/Establecimientos/Reunion es/Reunion_II/II_Validación_de_Limpieza.pdf

OMS. (1996). *OMS, Serie de Informes Técnicos 860*. 32. [https://medicamentos.mspas.gob.gt/phocadownload/informe 32 de la OMS completo.pdf](https://medicamentos.mspas.gob.gt/phocadownload/informe%2032%20de%20la%20OMS%20completo.pdf)

- Rezquellah, W. (2015). *TESIS DOCTORAL FACULTAD DE FARMACIA*.
http://diposit.ub.edu/dspace/bitstream/2445/98040/1/Wafae Rezquellah_THESIS.pdf
- Salazar, R., Pujol, M., Boya, M. (2007). *Cualificación y validación, elementos básicos de la calidad y productividad industrial* (R. S. Macian (ed.)).
- Torres, M. (2017). *ESTUDIO COMPARATIVO PARA LA SELECCIÓN DE DETERGENTES PARA LA LIMPIEZA DE LA LÍNEA DE PRODUCCIÓN DEL IBUPROFENO, DE LA EMPRESA JAMES BROWN PHARMA-PLANTA PIFO* [Universidad Central del Ecuador].
<http://www.dspace.uce.edu.ec/bitstream/25000/13592/1/T-UCE-0017-0080-2017.pdf>
- USP. (2007). *US Pharmacopeia, USP Chapter 1225: Validation of Compendial Methods. United States Pharmacopeia 30, National Formulary 25*.
http://www.pharmacopeia.cn/v29240/usp29nf24s0_c1225.html
- WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparation. (2012). Appendix 3, Cleaning Validation. In *Anexo 3, Fifty third report*. (pp. 19–40).
<http://digicollection.org/whoqapharm/documents/s23430en/s23430en.pdf>

ANEXOS

Anexo 1. Inspección visual

Nº	EQUIPO	PARÁMETRO INSPECCIÓN VISUAL			OBSER VACIO NES
		CRITERIO	RESULTADO	DECISIÓN	
1	Tamiz # 16		OK	Cumple	
2	Tamiz # 20		OK	Cumple	
3	Marmita		OK	Cumple	
4	Agitador lightnin		OK	Cumple	
5	Tanque de 80 l (mezclador de tambor alfa)		OK	Cumple	
6	Mezclador velox		OK	Cumple	
7	Estufa lukon		OK	Cumple	
8	Tableteadora fette		OK	Cumple	
9	Bombo de recubrimiento		OK	Cumple	
10	Blisteadora w&s	Visualmente limpio y en el agua del último enjuague no se genera espuma.	OK	Cumple	NA
11	Balde de acero inoxidable		OK	Cumple	
12	Jarra de acero inoxidable		OK	Cumple	
13	Jarra plástica		OK	Cumple	
14	Paleta de acero inoxidable		OK	Cumple	
15	Paleta plástica		OK	Cumple	
16	Pala de pesaje del principio activo		OK	Cumple	
17	Uniforme 1		OK	Cumple	
18	Uniforme 2		OK	Cumple	
19	Balanza		OK	Cumple	
20	Balanza de precisión 1	OK	Cumple		
21	Balanza área de pesaje	OK	Cumple		
22	Cabina de pesaje #1	OK	Cumple		
23	Área de naturales	OK	Cumple		
24	Área bombo de recubrimiento	OK	Cumple		
25	Área blister	OK	Cumple		

Fuente: (Guevara, 2022)

Anexo 2. Gráficos de regresión lineal.

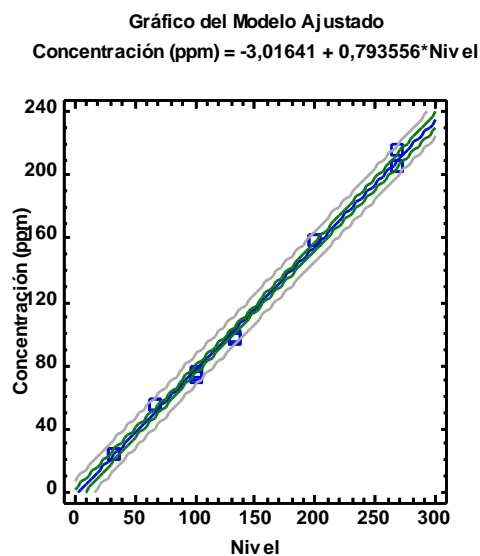


Figura 15. Regresión Simple linealidad del Sistema Coeficiente de Correlación = 0,997945
R-cuadrada = 99,5894%.

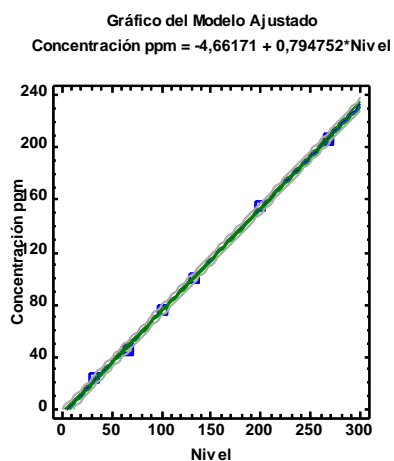


Figura 16. Regresión Simple linealidad del Método Coeficiente de Correlación = 0,99961
R-cuadrada = 99,922%.

Anexo 3. Resultados de validación de limpieza de la ruta de tabletas de Matico, análisis fisicoquímico, microbiológico y detergente.

				Análisis Físicoquímico		Análisis microbiológico			Análisis de detergente	
				Absorbancia	Cantidad del analito (mg)	AEROBIOS MESÓFILOS	MOHOS Y LEVADURAS	PATÓGENOS	pH	Conductividad $\mu\text{s}/\text{cm}$
EQUIPO	Punto		UFC/cm ²							
1	Tamiz # 16	1.1	Fondo del Tamiz (Cara Interna)	0	0	<10	<10	Ausente	6,092	6,5
		1.2	Cara Interna del tamiz	0,055	0,00576	<10	<10	Ausente		
		1.3	Cuerpo del tamiz (Cara externa)	0	0	40	20	Ausente		
2	Tamiz # 20	2.1	Fondo del Tamiz (Cara Interna)	0	0	<10	<10	Ausente	6,123	6,4
		2.2	Cara Interna del tamiz	0	0	<10	<10	Ausente		
		2.3	Cuerpo del tamiz (Cara externa)	0	0	<10	<10	Ausente		
3	Marmita	3.1	Fondo de la marmita (Cara Interna)	0	0	<10	<10	Ausente	6,083	6,33
		3.2	Cara Interna de la marmita	0	0	<10	<10	Ausente		
		3.3	Cuerpo de la marmita (Cara externa)	0	0	<10	<10	Ausente		
4	Agitador lightnin	4.1	Aspa cara 1	0	0	<10	<10	Ausente	6,204	6,97
		4.2	Aspa cara 2	0	0	<10	<10	Ausente		
		4.3	Aspa cara 3	0,063	0,02879	10	<10	Ausente		
		4.4	Paleta (Mango)	0,058	0,014	<10	10	Ausente		
5	Tanque de 80 L (mezclador de tambor alfa)	5.1	Fondo del tanque (Cara Interna)	0	0	<10	<10	Ausente	6,312	4,291
		5.2	Cara Interna del tanque	0	0	<10	10	Ausente		
		5.3	Cuerpo del tanque (Cara externa)	0	0	<10	<10	Ausente		

6	Mezclador velox	6.1	Fondo de la cubierta protectora (Cara Interna)	0,065	0,00345	<10	<10	Ausente	6,434	4,291
		6.2	Cara Interna de la cubierta protectora	0	0	<10	<10	Ausente		
		6.3	Cuerpo de la cubierta protectora (Cara externa)	0	0	100	80	Ausente		
		6.4	Fondo del cuenco (Cara Interna)	0	0	<10	<10	Ausente		
		6.5	Cara Interna del cuenco	0,061	0,0023	<10	<10	Ausente		
		6.6	Cuerpo del cuenco (Cara externa)	0	0	<10	<10	Ausente		
7	Estufa lukon	7.1	Piso interno	0,062	0,002591	<10	<10	Ausente	6,556	5,672
		7.2	Pared lateral derecha interna	0	0	<10	10	Ausente		
		7.3	Pared lateral izquierda interna	0,063	0,002879	<10	10	Ausente		
		7.4	Puerta Interna	0	0	<10	<10	Ausente		
		7.5	Techo Interno	0,059	0,001728	<10	<10	Ausente		
		7.6	Manija de la puerta	0	0	<10	<10	Ausente		
		7.7	Superficie de la bandeja	0	0	<10	<10	Ausente		
		7.8	Esquina aleatoria 1	0,06	0,002016	20	20	Ausente		
		7.9	Esquina aleatoria 2	0,06	0,002018	<10	<10	Ausente		

		7.1	Esquina aleatoria 3	0	0	<10	<10	Ausente		
		7.11	Esquina aleatoria 4	0	0	<10	<10	Ausente		
8	Tableteadora fette	8.1	Superficie del alimentador de tabletas	0,055	0,000575	<10	<10	Ausente	6,678	5,783
		8.2.1	Punzón aleatorio #1			<10	<10	Ausente		
		8.2.2	Punzón aleatorio #2	0,055	0,000576	<10	<10	Ausente		
		8.2.3	Punzón aleatorio #3	0	0	<10	<10	Ausente		
		8.2.4	Punzón aleatorio #4	0	0	<10	<10	Ausente		
		8.3.1	Matriz aleatoria #1	0	0	<10	<10	Ausente		
		8.3.2	Matriz aleatoria #2	0	0	<10	<10	Ausente		
		8.3.3	Matriz aleatoria #3	0	0	<10	<10	Ausente		
		8.3.4	Matriz aleatoria #4	0	0	<10	<10	Ausente		
		8.4	Superficie salida de tabletas formadas	0,064	0,003167	<10	<10	Ausente		
9	Bombo de recubrimiento	9.1	Cara Interna del bombo de recubrimiento	0,062	0,00259	<10	<10	Ausente	6,791	4,394
		9.2	Fondo del bombo de recubrimiento (Cara Interna)	0	0	<10	<10	Ausente		
		9.3	Cuerpo del bombo de	0	0	<10	<10	Ausente		

			recubrimiento (Cara externa)						
		9.4	Orificio de salida del brazo del generador de aire caliente	0	0	<10	<10	Ausente	
		9.5	Cara externa del brazo del generador de aire caliente	0	0	<10	<10	Ausente	
		9.6	Orificio de salida de la manguera de la bomba peristáltica	0	0	<10	<10	Ausente	
		9.7	Cara externa de la manguera de la bomba peristáltica	0	0	<10	<10	Ausente	
10	Blisteadora w&s	10.1	Superficie del área de llenado	0	0	<10	<10	Ausente	6,513
		10.2.1	Superficie del alimentador de tabletas esquina #1	0	0	<10	<10	Ausente	
		10.2.2	Superficie del alimentador de tabletas esquina #2	0	0	<10	<10	Ausente	
		10.2.3	Superficie del alimentador de tabletas esquina #3	0	0	<10	<10	Ausente	

		10.2.4	Superficie del alimentador de tabletas esquina #4	0	0	<10	<10	Ausente		
		10.3	Resbaladilla	0	0	<10	<10	Ausente		
		10.4	Pvc	0	0	<10	<10	Ausente		
		10.5	Rollo de aluminio	0	0	<10	<10	Ausente		
11	Balde de acero inoxidable	11.1	Fondo Balde Acero Inoxidable	0	0	<10	<10	Ausente	6	4,896
		11.2	Cara lateral Balde Acero Inoxidable.	0	0	<10	<10	Ausente		
		11.3	Cara externa Balde Acero Inoxidable.	0	0	<10	<10	Ausente		
12	Jarra de acero inoxidable	12.1	Fondo Jarra Acero Inoxidable	0	0	<10	<10	Ausente	6,413	5,987
		12.2	Cara lateral Jarra Acero Inoxidable	0	0	<10	<10	Ausente		
		12.3	Cara externa Jarra Acero Inoxidable	0	0	<10	<10	Ausente		
13	Jarra plástica	13.1	Fondo Jarra Plástica	0	0	<10	<10	Ausente	6,514	4,778
		13.2	Cara lateral Jarra Plástica	0	0	<10	<10	Ausente		
		13.3	Cara externa Jarra Plástica	0	0	<10	<10	Ausente		
14	Paleta de acero inoxidable	14.1	Aspa	0	0	<10	<10	Ausente	6,627	6,89
		14.2	Mango	0,067	0,004031	<10	<10	Ausente		
15		15.1	Aspa	0	0	<10	<10	Ausente	6,538	6,781

	Paleta plástica	15.2	Mango	0	0	<10	<10	Ausente		
16	Pala de pesaje del principio activo	16.1	Cara interna de la pala	0	0	<10	<10	Ausente	6,439	6,657
		16.2	Cara externa	0	0	<10	<10	Ausente		
		16.3	Mango	0	0	<10	<10	Ausente		
17	Uniforme 1	17.1	Manga izquierda	0	0	<10	<10	Ausente	6,341	6,548
		17.2	Manga derecha	0	0	<10	<10	Ausente		
		17.3	Cintura	0	0	<10	<10	Ausente		
		17.4	Pierna izquierda	0	0	<10	<10	Ausente		
		17.5	Pierna derecha	0	0	<10	<10	Ausente		
		17.6	Parte trasera a nivel de la cintura.	0	0	<10	<10	Ausente		
18	Uniforme 2	18.1	Manga izquierda	0	0	<10	<10	Ausente	6,458	4,639
		18.2	Manga derecha	0	0	<10	<10	Ausente		
		18.3	Cintura	0	0	<10	<10	Ausente		
		18.4	Pierna izquierda	0	0	<10	<10	Ausente		
		18.5	Pierna derecha	0	0	<10	<10	Ausente		
		18.6	Parte trasera a nivel de la cintura	0	0	<10	<10	Ausente		
19	Balanza	19.1 .	Centro del plato de pesada, solo AM sin contacto	0	0	<10	<10	Ausente	6,567	5,72

20	Balanza de precisión 1	20.1	Cuerpo del plato de pesada	0	0	<10	<10	Ausente	6,676	5,81
21	Balanza área de pesaje	21.1	Centro del plato de pesada, solo AM sin contacto.	0	0	<10	<10	Ausente	6,775	4,837
22	CABINA #1 / PESAJE	22.1	Piso	0	0	<10	<10	Ausente	6,584	5,762
		22.2	Ventana	0	0	<10	<10	Ausente		
		22.3	Puerta corrediza	0	0	<10	<10	Ausente		
23	Área de naturales	23.1	Piso	0,069	0,004607	<10	<10	Ausente	6,493	6,853
		23.2	Pared lateral derecha	0,061	0,0023	<10	<10	Ausente		
		23.3	Pared lateral izquierda	0	0	<10	<10	Ausente		
		23.4	Pared frontal	0	0	<10	<10	Ausente		
		23.5	Techo	0,065	0,003455	<10	<10	Ausente		
		23.6	Manija de la puerta de entrada.	0	0	<10	<10	Ausente		
24	Área bombo de recubrimiento	24.1	Piso	0	0	<10	<10	Ausente	6,302	4,636
		24.2	Pared lateral derecha	0	0	<10	<10	Ausente		
		24.3	Pared lateral izquierda	0	0	<10	<10	Ausente		
		24.4	Pared frontal	0	0	<10	<10	Ausente		
		24.5	Techo	0	0	<10	<10	Ausente		
		24.6	Manija de la puerta de entrada.	0	0	<10	<10	Ausente		
25	Área blister	25.1	Pared lateral Derecha	0	0	<10	<10	Ausente	6,501	4,845

	25.2	Pared lateral izquierda	0	0	<10	<10	Ausente		
	25.3	Techo	0	0	<10	<10	Ausente		
	25.4	Pared frontal	0	0	<10	<10	Ausente		
	25.5	Pared adyacente a la puerta de entrada	0	0	<10	<10	Ausente		
	25.6	Manija de la puerta de entrada	0	0	<10	<10	Ausente		
		Total	1,104	0,086833	170	150	Ausente		

Anexo 4. Gráficos de análisis fisicoquímico y microbiológico.



Figura 17. Resultados de cantidad de analito (mg) por cada punto de muestreo

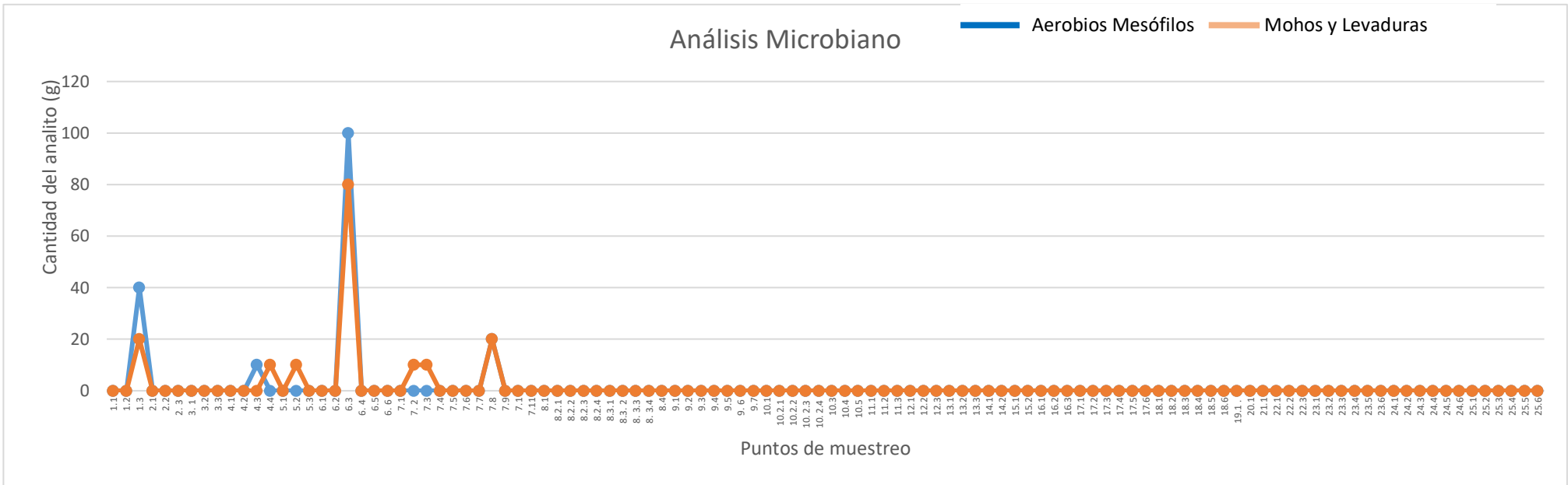


Figura 18. Resultados de recuento de aerobios mesófilos (línea azul), mohos y levaduras (línea naranja) en UFC/cm² por cada punto de muestreo.

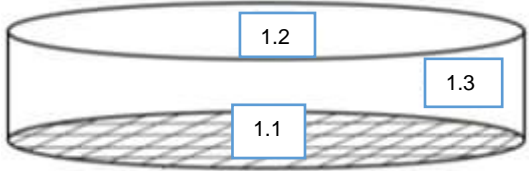
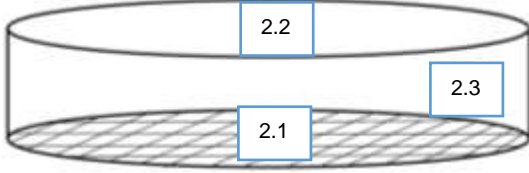
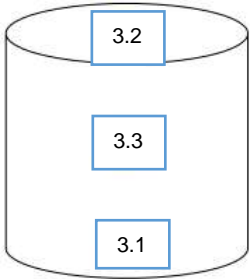
Anexo 5. Optimización del proceso de limpieza

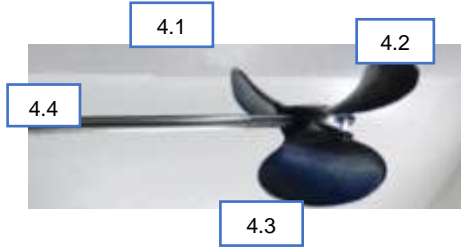
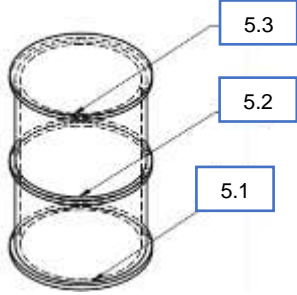
Ensayo	A: Concentración de alcohol (% V/V)	B: Concentración de detergente (% V/V)	Punto	Absorbancia				Peso (mg)
				Réplica 1	Réplica 2	Réplica 3	Promedio	
1	75%	25%	6.4	0,107	0,107	0,107	0,107	0,028700692
			7.8	0,015	0,016	0,016	0,01566667	0,004202282
			7.9	0,05	0,05	0,05	0,05	0,013411538
			8.2	0	0	0	0	0
			8.4	0	0,001	0,001	0,00066667	0,000178821
2	75%	50%	6.4	0,019	0,02	0,02	0,01966667	0,005275205
			7.8	0	0	0	0	0
			7.9	0,009	0,01	0,01	0,00966667	0,002592897
			8.2	0	0	0	0	0
			8.4	0	0	0	0	0
3	75%	75%	6.4	0,015	0,015	0,016	0,01533333	0,004112872
			7.8	0	0	0	0	0
			7.9	0,021	0,022	0,023	0,022	0,005901077
			8.2	0,088	0,089	0,089	0,08866667	0,023783128
			8.4	0,001	0	0,001	0,00066667	0,000178821
4	85%	25%	6.4	0	0	0	0	0
			7.8	0,008	0,009	0,007	0,008	0,002145846
			7.9	0,011	0,012	0,013	0,012	0,003218769
			8.2	0,004	0,005	0,005	0,00466667	0,001251744
			8.4	0	0	0	0	0
5	85%	50%	6.4	0,001	0,001	0,002	0,00133333	0,000357641
			7.8	0,06	0,06	0,061	0,06033333	0,016183256

			7.9	0,118	0,118	0,118	0,118	0,031651231
			8.2	0,002	0	0,001	0,001	0,000268231
			8.4	0,001	0	0	0,000333333	8,94103E-05
6	85%	75%	6.4	0,007	0,008	0,008	0,00766667	0,002056436
			7.8	0,063	0,063	0,064	0,063333333	0,016987949
			7.9	0,055	0,055	0,055	0,055	0,014752692
			8.2	0,012	0,013	0,013	0,01266667	0,00339759
			8.4	0,012	0,012	0,013	0,012333333	0,003308179
			6.4	0	0	0	0	0
7	95%	25%	7.8	0	0	0,001	0,000333333	8,94103E-05
			7.9	0,093	0,094	0,095	0,094	0,025213692
			8.2	0,006	0,005	0,006	0,00566667	0,001519974
			8.4	0,081	0,081	0,081	0,081	0,021726692
			6.4	0,005	0,006	0,006	0,00566667	0,001519974
8	95%	50%	7.8	0	0	0	0	0
			7.9	0	0	0	0	0
			8.2	0	0	0	0	0
			8.4	0	0	0	0	0
			6.4	0,007	0,007	0,008	0,007333333	0,001967026
9	95%	75%	7.8	0,027	0,027	0,027	0,027	0,007242231
			7.9	0,058	0,058	0,059	0,058333333	0,015646795
			8.2	0	0	0	0	0
			8.4	0,038	0,039	0,039	0,03866667	0,01037159
								Promedio




Fuente: (Guevara, 2022)

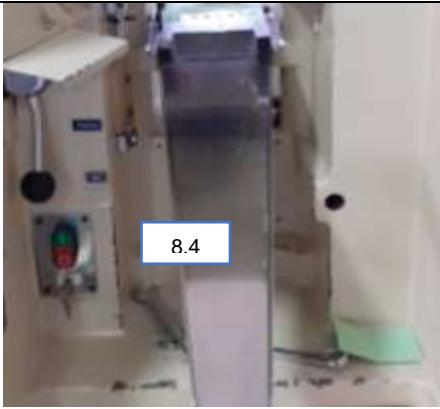
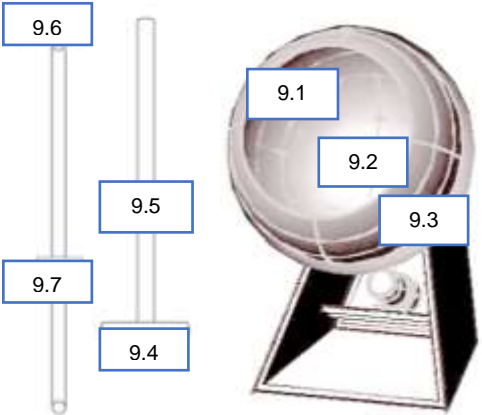
Anexo 6. Puntos de Muestreo

N°	GRÁFICA/ DIAGRAMA DEL EQUIPO	
1	<p style="text-align: center;">TAMIZ # 16</p> 	<p>1.1 Fondo del Tamiz (Cara Interna)</p> <p>1.2 Cara Interna del tamiz</p> <p>1.3 Cuerpo del tamiz (Cara externa)</p> <hr/> <p>Técnica: Hisopado</p>
2	<p style="text-align: center;">TAMIZ # 20</p> 	<p>2.1 Fondo del Tamiz (Cara Interna)</p> <p>2.2 Cara Interna del tamiz</p> <p>2.3 Cuerpo del tamiz (Cara externa)</p> <hr/> <p>Técnica: Hisopado</p>
3	<p style="text-align: center;">MARMITA</p> 	<p>3.1 Fondo de la marmita (Cara Interna)</p> <p>3.2 Cara Interna de la marmita</p> <p>3.3 Cuerpo de la marmita (Cara externa)</p> <hr/> <p>Técnica: Hisopado</p>




4	<p style="text-align: center;">AGITADOR LIGHTNIN</p> 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">4.1 Aspa cara 1</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">4.2 Aspa cara 2</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">4.3 Aspa cara 3</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">4.4 Paleta (Mango)</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Técnica: Hisopado</td> </tr> </table>	4.1 Aspa cara 1	4.2 Aspa cara 2	4.3 Aspa cara 3	4.4 Paleta (Mango)	Técnica: Hisopado
4.1 Aspa cara 1							
4.2 Aspa cara 2							
4.3 Aspa cara 3							
4.4 Paleta (Mango)							
Técnica: Hisopado							
5	<p style="text-align: center;">TANQUE DE 80 L (TAMBOR MEZCLADOR DE ALFA)</p> 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">5.1 Fondo del tanque (Cara Interna)</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">5.2 Cara Interna del tanque</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">5.3 Cuerpo del tanque (Cara externa)</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Técnica: Hisopado</td> </tr> </table>	5.1 Fondo del tanque (Cara Interna)	5.2 Cara Interna del tanque	5.3 Cuerpo del tanque (Cara externa)	Técnica: Hisopado	
5.1 Fondo del tanque (Cara Interna)							
5.2 Cara Interna del tanque							
5.3 Cuerpo del tanque (Cara externa)							
Técnica: Hisopado							

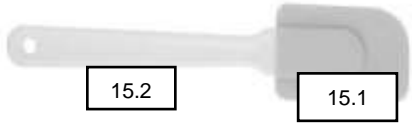

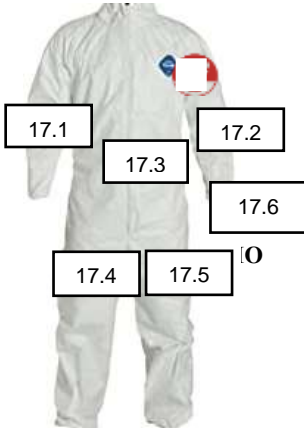
6	<p style="text-align: center;">MEZCLADOR VELOX</p> 	<p>6.1 Fondo de la cubierta protectora (Cara Interna)</p> <p>6.2 Cara Interna de la cubierta protectora</p> <p>6.3 Cuerpo de la cubierta protectora (Cara externa)</p> <p>6.4 Fondo del cuenco (Cara Interna)</p> <p>6.5 Cara Interna del cuenco</p> <p>6.6 Cuerpo del cuenco (Cara externa)</p> <p>Técnica: Hisopado</p>
7	<p style="text-align: center;">ESTUFA LUKON</p> 	<p>7.1 Piso interno</p> <p>7.2 Pared lateral derecha interna</p> <p>7.3 Pared lateral izquierda interna</p> <p>7.4 Puerta Interna</p> <p>7.5 Techo Interno</p> <p>7.6 Manija de la puerta</p> <p>7.7 Superficie de la bandeja</p> <p>7.8 Esquina aleatoria 1</p> <p>7.9 Esquina aleatoria 2</p>

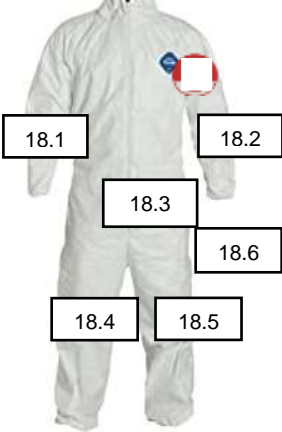

		<p>7.10 Esquina aleatoria 3</p> <p>7.11 Esquina aleatoria 4</p> <p>Técnica: Hisopado</p>
8	<p style="text-align: center;">TABLETEADORA FETTE</p>  	<p>8.1 Superficie del alimentador de tabletas</p> <p>8.2.1 Punzón aleatorio #1</p> <p>8.2.2 Punzón aleatorio #2</p> <p>8.2.3 Punzón aleatorio #3</p> <p>8.2.4 Punzón aleatorio #4</p> <p>8.3.1 Matriz aleatoria #1</p> <p>8.3.2 Matriz aleatoria #2</p> <p>8.3.3 Matriz aleatoria #3</p> <p>8.3.4 Matriz aleatoria # 4</p> <p>8.4 Superficie salida de tabletas formadas</p> <p>Técnica: Hisopado</p>

		
9	<p style="text-align: center;">BOMBO DE RECUBRIMIENTO</p> 	<p>9.1 Cara Interna del bombo de recubrimiento</p> <p>9.2 Fondo del bombo de recubrimiento (Cara Interna)</p> <p>9.3 Cuerpo del bombo de recubrimiento (Cara externa)</p> <p>9.4 Orificio de salida del brazo del generador de aire caliente</p> <p>9.5 Cara externa del brazo del generador de aire caliente</p> <p>9.6 Orificio de salida de la manguera de la bomba peristáltica</p> <p>9.7 Cara externa de la manguera de la bomba peristáltica</p>
		<p>10.1 Superficie del área de llenado</p>

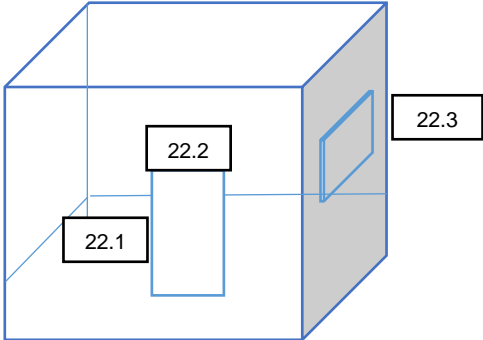
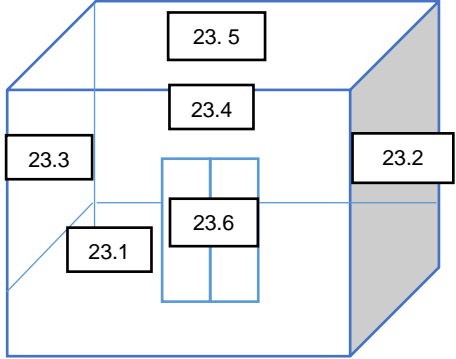
10	<p style="text-align: center;">BLISTEADORA W&S</p> 	<p>10.2.1 Superficie del alimentador de tabletas esquina #1</p> <p>10.2.2 Superficie del alimentador de tabletas esquina #2</p> <p>10.2.3 Superficie del alimentador de tabletas esquina #3</p> <p>10.2.4 Superficie del alimentador de tabletas esquina #4</p> <p>10.3 Resbaladilla</p> <p>10.4 PVC</p> <p>10.5 Rollo de aluminio</p> <p>Técnica: Hisopado</p>
11	<p style="text-align: center;">BALDE DE ACERO INOXIDABLE</p> 	<p>11.1 Fondo Balde Acero Inoxidable</p> <p>11.2 Cara lateral Balde Acero Inoxidable.</p> <p>11.3 Cara externa Balde Acero Inoxidable.</p> <p>Técnica: Hisopado</p>

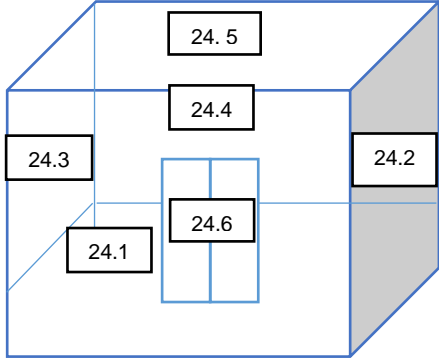
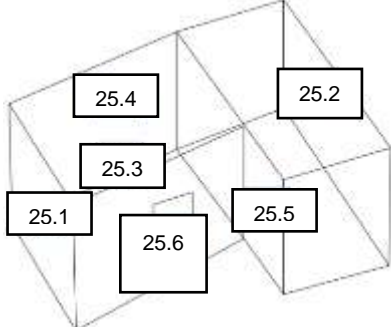
12	<p style="text-align: center;">JARRA DE ACERO INOXIDABLE</p> 	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>12.1 Fondo Jarra Acero Inoxidable</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">12.2 Cara lateral Jarra Acero Inoxidable</td> </tr> <tr> <td>12.3 Cara externa Jarra Acero Inoxidable</td> </tr> <tr> <td>Técnica: Hisopado</td> </tr> </tbody> </table>	12.1 Fondo Jarra Acero Inoxidable	12.2 Cara lateral Jarra Acero Inoxidable	12.3 Cara externa Jarra Acero Inoxidable	Técnica: Hisopado
12.1 Fondo Jarra Acero Inoxidable						
12.2 Cara lateral Jarra Acero Inoxidable						
12.3 Cara externa Jarra Acero Inoxidable						
Técnica: Hisopado						
13	<p style="text-align: center;">JARRA PLÁSTICA</p> 	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>13.1 Fondo Jarra Plástica</td> </tr> <tr> <td style="text-align: center;">13.2 Cara lateral Jarra Plástica</td> </tr> <tr> <td>13.3 Cara externa Jarra Plástica</td> </tr> <tr> <td>Técnica: Hisopado</td> </tr> </tbody> </table>	13.1 Fondo Jarra Plástica	13.2 Cara lateral Jarra Plástica	13.3 Cara externa Jarra Plástica	Técnica: Hisopado
13.1 Fondo Jarra Plástica						
13.2 Cara lateral Jarra Plástica						
13.3 Cara externa Jarra Plástica						
Técnica: Hisopado						
14	<p style="text-align: center;">PALETA DE ACERO INOXIDABLE</p> 	<table border="1"> <tbody> <tr> <td>14.1 Aspa</td> </tr> <tr> <td>14.2 Mango</td> </tr> <tr> <td>Técnica: Hisopado</td> </tr> </tbody> </table>	14.1 Aspa	14.2 Mango	Técnica: Hisopado	
14.1 Aspa						
14.2 Mango						
Técnica: Hisopado						

15	<p style="text-align: center;">PALETA PLÁSTICA</p> 	<table border="1"> <tr><td>15.1 Aspa</td></tr> <tr><td>15.2 Mango</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	15.1 Aspa	15.2 Mango	Técnica: Hisopado				
15.1 Aspa									
15.2 Mango									
Técnica: Hisopado									
16	<p style="text-align: center;">PALA DE PESAJE DEL PRINCIPIO ACTIVO</p> 	<table border="1"> <tr><td>16.1 Cara interna de la pala</td></tr> <tr><td>16.2 Cara externa</td></tr> <tr><td>16.3 Mango</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	16.1 Cara interna de la pala	16.2 Cara externa	16.3 Mango	Técnica: Hisopado			
16.1 Cara interna de la pala									
16.2 Cara externa									
16.3 Mango									
Técnica: Hisopado									
17	<p style="text-align: center;">UNIFORME 1</p> 	<table border="1"> <tr><td>17.1 Manga izquierda</td></tr> <tr><td>17.2 Manga derecha</td></tr> <tr><td>17.3 Cintura</td></tr> <tr><td>17.4 Pierna izquierda</td></tr> <tr><td>17.5 Pierna derecha</td></tr> <tr><td>17.6 Parte trasera a nivel de la cintura.</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	17.1 Manga izquierda	17.2 Manga derecha	17.3 Cintura	17.4 Pierna izquierda	17.5 Pierna derecha	17.6 Parte trasera a nivel de la cintura.	Técnica: Hisopado
17.1 Manga izquierda									
17.2 Manga derecha									
17.3 Cintura									
17.4 Pierna izquierda									
17.5 Pierna derecha									
17.6 Parte trasera a nivel de la cintura.									
Técnica: Hisopado									

18	<p style="text-align: center;">UNIFORME 2</p> 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">18.1 Manga izquierda</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">18.2 Manga derecha</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">18.3 Cintura</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">18.4 Pierna izquierda</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">18.5 Pierna derecha</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">18.6 Parte trasera a nivel de la cintura</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Técnica: Hisopado</td> </tr> </table>	18.1 Manga izquierda	18.2 Manga derecha	18.3 Cintura	18.4 Pierna izquierda	18.5 Pierna derecha	18.6 Parte trasera a nivel de la cintura	Técnica: Hisopado
18.1 Manga izquierda									
18.2 Manga derecha									
18.3 Cintura									
18.4 Pierna izquierda									
18.5 Pierna derecha									
18.6 Parte trasera a nivel de la cintura									
Técnica: Hisopado									
19	<p style="text-align: center;">BALANZA</p> 	<table border="1" style="width: 100%; border-collapse: collapse;"> <tr> <td style="padding: 2px;">19.1 Centro del plato de pesada, solo AM sin contacto.</td> </tr> <tr> <td style="padding: 2px;">Técnica: Hisopado</td> </tr> </table> <p style="margin-top: 20px;">Nota: Sin contacto con el producto.</p>	19.1 Centro del plato de pesada, solo AM sin contacto.	Técnica: Hisopado					
19.1 Centro del plato de pesada, solo AM sin contacto.									
Técnica: Hisopado									

20	<p style="text-align: center;">BALANZA DE PRECISIÓN 1</p> 	<p>20.1 Cuerpo del plato de pesada</p> <p>Técnica: Hisopado</p> <p>Nota: Sin contacto con el producto.</p>
21	<p style="text-align: center;">BALANZA ÁREA DE PESAJE</p> 	<p>21.1 Centro del plato de pesada, solo AM sin contacto.</p> <p>Técnica: Hisopado</p>

22	<p style="text-align: center;">CABINA #1 / PESAJE</p> 	<table border="1"> <tr><td>22.1 Piso</td></tr> <tr><td>22.2 Ventana</td></tr> <tr><td>22.3 Puerta corrediza</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	22.1 Piso	22.2 Ventana	22.3 Puerta corrediza	Técnica: Hisopado			
22.1 Piso									
22.2 Ventana									
22.3 Puerta corrediza									
Técnica: Hisopado									
23	<p style="text-align: center;">ÁREA DE NATURALES</p> 	<table border="1"> <tr><td>23.1 Piso</td></tr> <tr><td>23.2 Pared lateral derecha</td></tr> <tr><td>23.3 Pared lateral izquierda</td></tr> <tr><td>23.4 Pared frontal</td></tr> <tr><td>23.5 Techo</td></tr> <tr><td>23.6 Manija de la puerta de entrada.</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	23.1 Piso	23.2 Pared lateral derecha	23.3 Pared lateral izquierda	23.4 Pared frontal	23.5 Techo	23.6 Manija de la puerta de entrada.	Técnica: Hisopado
23.1 Piso									
23.2 Pared lateral derecha									
23.3 Pared lateral izquierda									
23.4 Pared frontal									
23.5 Techo									
23.6 Manija de la puerta de entrada.									
Técnica: Hisopado									

24	<p style="text-align: center;">ÁREA BOMBO DE RECUBRIMIENTO</p> 	<table border="1"> <tr><td>24.1 Piso</td></tr> <tr><td>24.2 Pared lateral derecha</td></tr> <tr><td>24.3 Pared lateral izquierda</td></tr> <tr><td>24.4 Pared frontal</td></tr> <tr><td>24.5 Techo</td></tr> <tr><td>24.6 Manija de la puerta de entrada.</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	24.1 Piso	24.2 Pared lateral derecha	24.3 Pared lateral izquierda	24.4 Pared frontal	24.5 Techo	24.6 Manija de la puerta de entrada.	Técnica: Hisopado
24.1 Piso									
24.2 Pared lateral derecha									
24.3 Pared lateral izquierda									
24.4 Pared frontal									
24.5 Techo									
24.6 Manija de la puerta de entrada.									
Técnica: Hisopado									
25	<p style="text-align: center;">ÁREA BLISTER</p> 	<table border="1"> <tr><td>25.1 Pared lateral Derecha</td></tr> <tr><td>25.2 Pared lateral izquierda</td></tr> <tr><td>25.3 Techo</td></tr> <tr><td>25.4 Pared frontal</td></tr> <tr><td>25.5 Pared adyacente a la puerta de entrada</td></tr> <tr><td>25.6 Manija de la puerta de entrada</td></tr> <tr><td>Técnica: Hisopado</td></tr> </table>	25.1 Pared lateral Derecha	25.2 Pared lateral izquierda	25.3 Techo	25.4 Pared frontal	25.5 Pared adyacente a la puerta de entrada	25.6 Manija de la puerta de entrada	Técnica: Hisopado
25.1 Pared lateral Derecha									
25.2 Pared lateral izquierda									
25.3 Techo									
25.4 Pared frontal									
25.5 Pared adyacente a la puerta de entrada									
25.6 Manija de la puerta de entrada									
Técnica: Hisopado									

Anexo 7. Evidencia Fotográfica

Análisis trazas de extracto de matico



Análisis trazas de detergente



Análisis microbiológico

