

VALIDACION DE LIMPIEZA DE UN REACTOR

Conceptos teóricos y caso de aplicación

Dr. Sergio Pallotto

Estandarizar los procedimientos de limpieza es un punto importante previo a la validación del mismo, no solo porque la calidad del producto puede ser afectada por la acumulación de polvo y por la contaminación microbiana, si no también porque la contaminación cruzada de un producto a otro podría llevar a serios efectos adversos en los pacientes.

Hoy existen instrucciones más específicas que deben ser seguidas por los fabricantes de productos farmacéuticos.

La FDA reafirma la necesidad de documentar los procedimientos de limpieza y espera que los laboratorios productores de medicamentos tengan:

- Protocolos escritos de validación
- Resultados documentados de los estudios con un reporte final aprobado por el Departamento de Aseguramiento de la Calidad de la empresa.

Surgen muchas preguntas al considerar el tema de validación de limpieza:

- Que contaminante posee la mayor amenaza para el producto
- Cual es el máximo nivel aceptable de contaminante
- Qué métodos de muestreo y testeo se requieren

Un procedimiento de limpieza validado proporciona un alto índice de seguridad de su efectividad.

Esta comprobación debe ser DOCUMENTADA.

La estructura básica de documentación incluye:

- PROTOCOLO DE VALIDACION
- REPORTES DE VALIDACIÓN (un mínimo de tres ensayos)
- Procedimientos relacionados
- Bibliografía correspondiente

Dentro de los elementos esenciales para el proceso de validación encontramos:

- El SOP de limpieza a validar específico para un equipo.
- Selección del WORST CASE.
- Procedimientos de muestreo.
- Procedimientos analíticos con la apropiada sensibilidad.
- Criterios de aceptación.

El procedimiento de limpieza debe proporcionar una lista que debe ser chequeada paso a paso mientras se lleva a cabo el procedimiento de limpieza. De esta forma los pasos son realizados en secuencia correcta y deben ser debidamente documentados.

Siempre que sea posible se debe usar AGUA A ALTAS TEMPERATURA y PRESION para aumentar la solubilidad del contaminante y ayudar a la remoción de residuos mediante la erosión física.

EN LA ETAPA FINAL DEL PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA es necesario remover los restos de agentes de limpieza.

Se requerirá el testeo del CONTAMINANTE y DEL AGENTE DE LIMPIEZA.

Se deben considerar las precauciones para evitar la contaminación microbiana en el diseño de los procesos de limpieza.

Realizar el enjuague con agua purificada y los equipos deben ser secados en forma inmediata después de su limpieza.

El procedimiento deberá incluir:

- Objetivo

- Responsabilidades

- Descripción del equipo

- Concentración del agente de limpieza y preparación

- Instrucciones de limpieza, incluyendo armado y desarmado del equipo

- Protección post-limpieza

- Identificación del status (con fecha de caducidad de la limpieza)

Para la elección del WORST CASE debemos considerar la formación de grupos eligiendo un criterio:

Por ejemplo, formar grupos según:

- Las características de formulación de los productos
- Por equipo: pensando solamente en un SOP para cada equipo.
- Por método de limpieza: tantos equipos usan un SOP de limpieza en común.
- Según los medios donde se disuelve el agente de limpieza: medio acuoso orgánico, etc.

La formulación es importante porque el proceso de limpieza afecta no solo al ingrediente activo si no también a los excipientes.

Agrupar cremas y ungüentos con el mismo activo, en el mismo grupo, no sería correcto por las diferencias grandes en sus solubilidades.

Podríamos formar grupos con productos con excipientes similares en su formulación y solubilidad de sus activos .

Luego de estos grupos elegir el producto cuyo activo tenga la menor solubilidad y ser éste nuestro representante o worst-case.

En este ejemplo dividimos a los semisólidos en tres grupos: Cremas, pomadas y ungüentos y empezamos con el worst-case del grupo de ungüentos, por ser éste grupo el que tiene menor solubilidad frente a agentes de limpieza en medios acuosos.

Otros elementos esenciales son los métodos de muestreo:

Existen varios métodos posibles, cada uno con sus ventajas y *desventajas*.

El hisopado lo usaremos para el muestreo de material adherido soluble y no soluble. Con este método entonces vamos a estar muestreando la droga residual, con la ventaja de muestrear un área definida (25 cm^2) y luego conociendo la superficie del reactor relacionaremos la cantidad hallada con la superficie total del equipo.

Podemos usarlo en lugares donde el agua de enjuague no es útil y podemos elegir los puntos críticos donde pensamos que es más difícil la eliminación del producto.

Como desventajas encontramos que el hisopo (si no es el adecuado) puede aportar impurezas que provoquen interferencias en el método

analítico elegido, que no podemos muestrear la superficie completa del equipo y que los resultados pueden ser dependientes de la técnica.

Debemos estandarizar los siguientes factores ya que afectan directamente la cantidad muestreada o la cuantificación analítica

- *N° de pasadas.*
- *Dirección.*
- *Rotación o no.*
- *Característica del hisopo: preferentemente*

Vástago: polipropileno

Unión: libre de adhesivos

Cabeza: poliéster

*El método de **agua de enjuague** involucra el uso de un volumen conocido para enjuagar la superficie del equipo.*

Este método prueba la superficie total y es menos dependiente de la técnica.

Es necesario conocer el volumen de enjuague para luego relacionarlo con el límite establecido.

Se detectan tanto los residuos solubles como los agentes de limpieza.

Sin embargo los resultados se ven afectados por la solubilidad del contaminante y la fuerza física del lavado. Una desventaja importante es la imposibilidad de detectar focos del residuo en los cuales el nivel de droga residual es muy alto.

Es por eso que este método es preferido para el muestreo de trazas de agentes de limpieza en medios acuosos.

Una muestra del volumen de enjuague es tomada y analizada por ejemplo por conductimetría.

Métodos analíticos:

La selección del método analítico depende del tipo de análisis que se necesite y de otros factores como costos, facilidad de implementación y experiencia previa que tengamos.

Los principales requerimientos son la sensibilidad y el límite de detección/cuantificación.

Estos requerimientos dependen directamente del criterio de aceptabilidad. Este criterio nos dará el máximo residuo permitido y esto es fundamental para la elección del método.

Estos métodos deben estar validados y el rango elegido en la validación del método debe abarcar los posibles resultados obtenidos.

Si el método de rutina utilizado para la valoración de productos es el elegido, debe ajustarse y validarse para la detección de trazas.

Los métodos pueden ser específicos o inespecíficos. Los métodos específicos para la cuantificación de droga residual pueden ser:

- HPLC
- TLC
- ESPECTROFOTOMETRIA
- ELISA
- ELECTROFORESIS CAPILAR

TLC tiene la desventaja del tiempo de preparación y que el punto final no es cuantitativo para la cuantificación de trazas.

ESPECTROFOTOMETRIA no es considerado cuantitativo para este caso.

La Cromatografía Líquida de Alta Performance como metodología de elección para la cuantificación de droga residual tiene las siguientes ventajas:

- Especificidad
- Sensibilidad
- Cuantitativo

Desventajas: costo y el tiempo de análisis.

La validación del método deberá cumplir los siguientes ensayos, según se decida trabajar con fines cuantitativos o con test límite (pasa o no pasa):

Ensayo	Análisis cuantitativo de impurezas/trazas	Test límite
Exactitud	+	-
Precisión	+	-
Especificidad	+	+
Límite de detección	-	+
Límite de cuantificación	+	-
Linealidad	+	-
Rango	+	-

Los análisis con fines cuantitativos nos permiten conocer el verdadero estado de la superficie del equipo y ubicar los lugares en los cuales los niveles de droga residual son críticos.

Métodos posibles para el análisis del agente de limpieza:

- TOC
- Conductividad
- PH

Carbono Orgánico total :

Las desventajas de la detección son:

- la no especificidad
- el tener que trabajar solo con medios acuosos
- y el alto costo del equipo.

Pero las ventajas son muchas:

El límite de detección es muy bueno

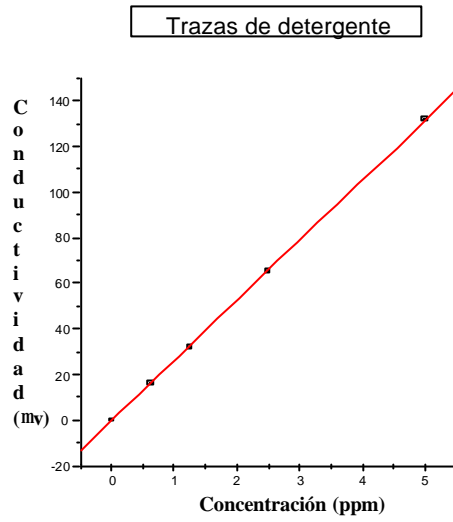
Es un método muy rápido

Se requiere poco volumen de muestra.

En este ejemplo elegimos trabajar con conductividad ya que el agente de limpieza elegido presenta LINEALIDAD en el rango elegido.

Este método no es específico pero es muy rápido, dá un resultado inmediato y es económico.

Es fundamental comprobar la linealidad del agente de limpieza al trabajar en un gráfico de conductividad en función de la concentración.



Se deben tener todos los cuidados al trabajar con conductividad :

La presencia de CO₂ en la muestra y la temperatura afectan directamente los valores.

LIMITES DE ACEPTACION:

Se deben definir límites de aceptación que hagan posible obtener un nivel de limpieza aceptable en nuestros equipos de producción.

Estos límites variarán de producto en producto y se pueden considerar los siguientes criterios según la FDA .

El primer criterio es en función de la *dosis terapéutica mínima diaria de A en la máxima dosis diaria de B.*

Máx residuo permitido de A (mg diarios) / área hisopada:

$$\frac{0,001 \text{ d}}{\text{D}} \times \frac{\text{U}}{\text{S}} \times \text{S}$$

¿ qué significa esta fórmula ?

-0,001 es un factor de seguridad y depende exclusivamente de la forma farmacéutica del producto.

-d es la dosis terapéutica mínima diaria del p.a. de A (primer producto elaborado).

Al multiplicar el factor (0,001) por la dosis mínima estoy indicando el 0,1 % de dicha dosis (0,1 % de la potencia mínima con actividad farmacológica)

-D es el máximo número de unidades de dosis de B (producto elaborado en segundo lugar) por día.

-U es el tamaño del lote de B expresado en número de unidades de dosis

-s: área standard hisopada (25 cm²)

-S: sumatoria de áreas comunes (25 cm²)

El segundo criterio indica que no más de 10 ppm de A es permitida en B.

$$10 \text{ ppm} \times \frac{T}{S} \times s$$

-T: tamaño final del lote de B (Kg)

-s: área standard hisopada (25 cm²)

-S: sumatoria de áreas comunes (25 cm²)

El tercer criterio indica que no debe haber trazas de residuos visibles al hisopar 25 cm², eluir y evaporar.

Estudios han determinado que en la mayoría de los productos los ingredientes activos son visibles en una cantidad de 400 mcg .

Esto significa que si los dos criterios anteriores dan valores superiores a 400 mcg / área hisopada \Rightarrow nuestro límite será 400 mcg / área.

Este caso no es frecuente.

El valor más exigente resultante de aplicar los tres criterios se utilizará como límite de aceptabilidad en la validación de limpieza.

LIMITES MICROBIOLÓGICOS Y AMBIENTALES

- Recuento aeróbico bacteriano total: menor de 2 ufc/cm²
- Recuento total de hongos: menor de 1 ufc/cm²
- Control ambiental: máximo 100 ufc/cm²

Por qué es importante la contaminación microbiológica?

Porque deben existir evidencias de que la limpieza y almacenamiento de rutina del equipo no permiten la proliferación microbiana.

Muestrear:

1. una vez finalizado el procedimiento de limpieza
2. una vez cumplido el plazo de vigencia otorgado a la limpieza (fecha de caducidad)

PROTOCOLO DE VALIDACION: EJEMPLO DE APLICACION

El protocolo de validación debe escribirse y aprobarse previo a la validación.

Este debe incluir los siguientes puntos:

➤ Objetivo: será demostrar que el procedimiento utilizado para la limpieza del reactor es eficaz y capaz de remover residuos químicos y el agente de limpieza por debajo del límite de aceptabilidad.

➤ Responsabilidad

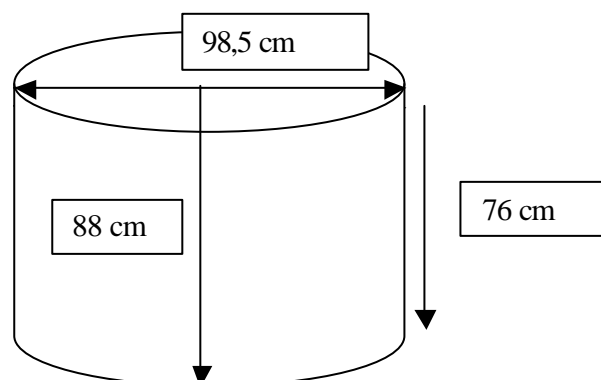
➤ Descripción del procedimiento de limpieza: adjuntar SOP correspondiente.

Agente de limpieza: Lauril Sulfato de Trietanol amina.

➤ Descripción del equipo, en este caso nos referiremos al mezclador, emulsionador, tapa y recipiente, etc y debemos calcular la superficie del reactor ya que es usada en los cálculos de los límites de aceptabilidad.

Por ejemplo: para determinar la superficie podemos considerar al reactor como un cilindro.

Superficie de un cilindro:



$$S: 2 \pi r (h + r)$$

$$S: 2 \cdot \pi \cdot 49,25 \text{ cm} (88,0 \text{ cm} + 49,25 \text{ cm})$$

$$S: 42.471,6 \text{ cm}^2$$

➤ Descripción del ensayo

Producto elegido:

Se eligió como sustancia a detectar un corticoide presente en un ungüento (producto A) por ser éste una forma farmacéutica difícil de eliminar y el corticoide una droga altamente activa.

El producto B elegido fue un jarabe pediátrico, por tener esta forma farmacéutica vía de administración oral y alta dosis diaria.

Descripción del ensayo:

Como primer paso se realiza la inspección visual:

No se deben observar residuos visibles sobre la superficie del equipo después de que el procedimiento de limpieza se ha completado.

Luego se detalla como realizar la determinación del residuo químico y la determinación microbiológica.

Se debe definir la metodología de muestreo en cada caso, lo ideal es detallar cada método o hacer referencia a un SOP específico. Por ejemplo el método de Hisopado para determinación de droga residual, método de agua de enjuague para determinación del agente de limpieza, etc.

Para la determinación microbiológica usaremos placas Rodac o Metodología de Hisopado, según sea la superficie plana o no.

Se deben seleccionar los puntos críticos a muestrear por ejemplo:

TUBO	LUGAR DE MUESTREO
1	Paleta contrarrotante del Reactor
2	Tapa (interior) Reactor
3	Pared Reactor
4	Turbo mixer
5	Sitio de apoyo de tapa
6	Junta de tapa

El muestreo del agente de limpieza se realizará tomando muestra del enjuague adicional que se practicará con una volumen definido de agua purificada. Ej. 5 litros.

➤ Análisis de las muestras

El análisis de droga residual: será realizado por HPLC y se debe incluir el procedimiento analítico detallado o adjuntar el SOP correspondiente.

Debe figurar:

-La metodología de elusión del Hisopo en la que se incluirá un blanco de extraíbles del Hisopo.

Los picos obtenidos en el cromatograma con el blanco no deben coincidir con el pico de interés. Si se obtiene una señal que coincide con el tiempo de retención del pico de la droga residual, nunca deberá restarse el área obtenida con el blanco al área obtenida con las muestras ya que la suciedad de los hisopos no es reproducible cuantitativamente.

-Se producen dos errores importantes en la metodología de muestreo y en la de extracción de la droga del hisopo.

El porcentaje de recuperación se realiza para poder corregir los resultados por un factor calculado al determinar que cantidad de droga residual real estamos recuperando de la superficie muestreada.

Debemos trabajar sobre una superficie de igual material que el reactor por ejemplo acero inoxidable, y sobre un área de 25 cm².

Se coloca sobre esa superficie una cantidad exacta de una solución (de conc.conocida) de la droga buscada y luego se deja evaporar el solvente de la superficie. Se muestrea con el método elegido (en este caso Hisopado) y se eluye la droga del hisopo con idéntica metodología que aplicamos en el ensayo de validación.

Luego de calcular la cantidad de droga encontrada la relacionamos con la cantidad real y obtendremos un factor de corrección , el que es usado en la corrección de los resultados.

Recuperaciones mayores al 50-60% son óptimas.

➤ Cálculos de los límites de aceptabilidad

Del siguiente cuadro se extraen los datos necesarios que se necesitan para el cálculo del límite permitido de droga residual.

	Ungüento	Jarabe
Mínima dosis (mg) de activo por día.	0,5 mg (1 gr)	186 mg (5 ml)
Posología máxima por día.	8 aplicaciones (8 gr)	8 aplicaciones (40 ml)
Tamaño del lote expresado en nro de dosis (aplicaciones).	200.000	100.000
Peso total del lote (Kg).	200	500
Superficie total del reactor	42.471,6 cm²	

Primero criterio:

$$\frac{0,001 \times 0,5 \text{ mg/día} \times 100000 \times 25 \text{ cm}^2}{8 \times 42471,6 \text{ cm}^2} = 0,0037 \text{ mg/25 cm}^2$$

Segundo criterio:

$$\frac{10 \times 500 \times 25 \text{ cm}^2}{42471,6 \text{ cm}^2} = 2,94 \text{ mg/ } 25 \text{ cm}^2$$

Tercer criterio: 0,400 mg/25 cm²

El valor más exigente para la cantidad de droga residual es 0,0037 mg/ área hisopada y será el límite de aceptabilidad en el ensayo de Validación de Limpieza.

Límite de aceptabilidad para el agente de limpieza: 10 ppm.

➤ Datos y gráficos adjuntos

TUBO	LUGAR DE MUESTREO	RESULTADOS OBTENIDOS	CORRECCION POR FACTOR DE RECUPERACION <i>60.8%</i>
1	Paleta contrarrotante del Reactor	0,43 ug/área hisopada	0,71 ug/área
2	Tapa (interior) Reactor	0,33 ug/área hisopada	0,54 ug/área
3	Pared Reactor	0,44 ug/área hisopada	0,72 ug/ área
4	Turbo mixer	0,36 ug/área hisopada	0,60 ug/área
5	Sitio de apoyo de tapa	0,36 ug/área hisopada	0,60 ug/área
6	Junta de tapa	2,13ug/área hisopada	3,50 ug/área

Si el ensayo de validación cumple con el límite establecido de droga residual y de agente de limpieza, como también los valores microbiológicos y ambientales, lo consideramos aprobado.

Un mínimo de tres ensayos óptimos y continuos darán el aprobado final de la validación del procedimiento de limpieza.

➤ Procedimientos relacionados

- Limpieza del equipo
- Muestreo
- Determinación de criterios de aceptabilidad
- Metodología por HPLC
- Muestreo de aire
- (Ficha técnica del agente de limpieza)

➤ Bibliografía correspondiente.

Revisión:

Aún cuando la eficacia de un proceso fue demostrada con la validación, los resultados deberían monitorearse anualmente para realizar tendencias de análisis.

La Revisión de la Validación debería incluirse en las auditorías internas con el objeto de chequear que los procedimientos de limpieza están consistentemente implementados.

Cualquier desviación debe llevar a una investigación.

- Si la acción correctiva involucra un error del operador, el proceso no necesita ser revalidado, se reforzará el entrenamiento del personal involucrado.
- Si la acción correctiva lleva a modificación del procedimiento, agente de limpieza, o cambio del equipo se requiere de una nueva validación.

Conclusiones:

La enorme tarea que implica tener todos los procedimientos de limpieza validados, puede ser facilitada por una estrategia que demuestre que tenemos todos nuestros procedimientos bajo control con la validación de un representante de cada grupo y que estamos trabajando para completar las validaciones restantes.

Y principalmente que tenemos un plan que lo acredita.