

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

“Validación del Proceso de Filtración Esterilizante para una Solución Parenteral de Bajo Volumen”



**Claudia Victoria Barrios Noriega
Química Farmacéutica**

Guatemala, noviembre de 2019

**UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE CIENCIAS QUÍMICAS Y FARMACIA**

“Validación del Proceso de Filtración Esterilizante para una Solución Parenteral de Bajo Volumen”

Informe de Tesis

**Presentado por
Claudia Victoria Barrios Noriega**

**Para optar al título de
Química Farmacéutica**

Guatemala, noviembre de 2019

JUNTA DIRECTIVA

M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto	Decano
Licda. Miriam Roxana Marroquín Leiva	Secretaria
Dr. Juan Francisco Pérez Sabino	Vocal I
Dr. Roberto Enrique Flores Arzú	Vocal II
Lic. Carlos Manuel Maldonado Aguilera	Vocal III
Br. Giovanni Rafael Funes Tovar	Vocal IV
Br. Carol Merarí Caceros Castañeda	Vocal V

ACTO QUE DEDICO

- A DIOS Por su infinito amor y misericordia para mi vida aun cuando no soy digna, aun cuando fallo, aun cuando soy débil.
- Señor, permíteme, de nunca olvidar que todo saber es vano salvo donde hay trabajo, y que todo trabajo es vacío si no hay Amor, y que todo Amor es hueco si no me uno a mí mismo, a los demás y a Ti. Señor, enséñame a rezar cada día con mis manos, mis brazos y toda mi fuerza, Recuérdame que la Obra de mis manos te pertenece y que me pertenece de entregártela, ofreciéndola a los demás. Que, si yo lo hago por el gusto de la ganancia, como una fruta olvidada yo me podriré en el otoño, Que, si yo lo hago para que los demás me admiren, como la flor me marchitaré todas las noches, Pero, si yo lo hago por el Amor del Bien, yo estaré siempre en el Bien Y el tiempo de hacer el Bien y en tu Gloria es aquí, en esta tierra y ahora en este instante.
- A MI PADRE Por su amor, sabiduría, sacrificio y entrega para hacer de mí una profesional. Este logro le pertenece y por siempre estaré agradecida, te amo padre.
- A MI MADRE Por ser el mayor ejemplo de mujer en mi vida, y por seguirme enseñando a través de su vida, aun cuando ya haya partido a la presencia de Dios. Mi amor por ti es infinito.
- A MI ESPOSO Por estar a mi lado apoyándome, por ser mi compañero de vida, por darle alegría a mi corazón y fuerza a mi alma para no desistir, por enseñarme a vivir admirando las cosas simples de la vida y acercarme a Dios de una manera sin igual. Te amo hasta la eternidad.
- A MI HERMANA Por ser un ancla, un centro de estabilidad y de amor incondicional, por ser la pionera indudable de nuestra familia y por ser un ejemplo para mi vida. Te amo grandemente.
- A MIS SOBRINOS María Alessandra, Sebastián, Eduardo, Adriana María, por ser una luz en mi vida, por ser ustedes quienes me impulsan a ser mejor cada día y poder ser un ejemplo para sus vidas. Los amo.
- A MI ABUELA Por su amor incondicional, sus consejos y su protección.
- A MIS TÍAS Y PRIMOS Por cubrirme con su amor, consejos, oraciones y enseñanzas, por hacerme sentir apoyada y hacer de mis días mejores.
- A FEBY LOPEZ Por ser mi ejemplo de profesional, pues la caracteriza la responsabilidad, la constancia, entrega, proactividad, compromiso, sentido de la investigación. Por compartir conmigo su conocimiento sin condición y por confiar en mí. Siempre estaré agradecida.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por permitirme estar culminando este proyecto rodeada de mi familia, esposo, amigos y colegas.

A mi padres y hermana por su incondicional amor y entrega en mi crianza, por estar conmigo en cada etapa de mi vida y llevar una vida ejemplar llena de valores y amor al prójimo.

A la familia Santizo y a la familia Estrada, por convertirse en mi familia, por su amor y apoyo incondicional en nuestra vida.

A mis amigos. Lineth Chanchavac, Nandy Nufio, Zandra Argueta, Melissa Ordoñez, Gustavo Loarca, Flor de Lyz Estrada, Darío Rodríguez, Lizy Montes y Julio Carrión, por hacer de mi vida Universitaria un recuerdo maravilloso y por permanecer en mi vida en los buenos y no tan buenos momentos. Los amo.

A mis amigas: Karen Saenz, Lucia Veliz y Jessica Serrano, por su apoyo, oraciones e intervenciones en los momentos indicados, son enviadas del Señor a mi vida.

A mis amigas Rosarianas Alejandra de Paz, Lisgrid Alarcon, Gladys Gatica y Nanci Cruz, por tantos años de amistad y de crecimiento, gracias por estar presentes en mi vida y por su amor y apoyo incondicional.

A la Universidad de San Carlos de Guatemala y a la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia por ser mi casa de estudio.

Al Departamento de Farmacia Industrial de la Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia de la Universidad de San Carlos de Guatemala y a Laboratorio Unipharm, S.A., por ser fuente de conocimiento para mi vida profesional y para la ejecución de mi trabajo de graduación.

A mis asesoras Licda. Lucrecia de Haase, Licda. Feby López y a mi revisor Lic. Estuardo Serrano por compartir sus conocimientos para la elaboración de mi informe final, agradezco todo el tiempo que me brindaron.

ÍNDICE

I. RESUMEN	1
II. INTRODUCCIÓN.....	3
III. ANTECEDENTES	5
a. Filtración:	5
b. Tipos de filtros según su composición y diseño:.....	8
c. Caracterización y selección de los filtros:	9
d. Características físicas y mecánicas:.....	12
E. Validación de filtros esterilizantes/ retención bacteriana (método destructivo):.....	14
F. Pruebas de integridad (método de validación no destructivo)	18
g. Validación Retrospectiva de Proceso:.....	20
IV. JUSTIFICACIÓN	23
V. OBJETIVOS.....	24
A. Generales:	24
b. Específicos:.....	24
VI. HIPÓTESIS.....	25
VII. MATERIALES Y MÉTODOS	26
A. Universo de Trabajo:.....	26
b. Muestra:.....	26
c. Materiales:	26
I. Métodos:	27
F. Modelo Estadístico.....	29
VIII. RESULTADOS	33
a. Evaluación de la Compatibilidad de los parámetros físicos y químicos.....	33
b. Análisis de la Adsorción del Activo:.....	36
c. Análisis de Retención Microbiológica y Pruebas de Integridad	38
IX. DISCUSIÓN.....	40
X. CONCLUSIONES	46
XI. RECOMENDACIONES	47
XII. REFERENCIAS.....	48
XIII. ANEXOS	51

I. RESUMEN

La presente investigación se realizó con la finalidad de evaluar el comportamiento del proceso de filtración esterilizante para una solución denominada como peor caso por su característica de concentración, como solución sobresaturada, de Dipirona 2g/5 mL, de una planta de productos parenterales de bajo volumen y validar dicho proceso con el propósito de cumplimiento normativo, el cual indica que todos los procesos de esterilización deben ser validados, según la OMS, informes técnicos 823, 32 informe, numerales 17.54 y 17.55 que indica, "Todos los procedimientos de esterilización deben ser validados" y, "Antes de probar un método de esterilización, debe demostrarse que es adecuado para el producto en cuestión y que es eficaz para alcanzar los niveles de esterilización deseados en todas las partes de cada tipo de carga a ser procesada.

En base a lo anteriormente expuesto, se desarrolló el plan maestro de validación, y se establecieron los criterios de cumplimiento para el mantenimiento del estado validado del proceso de filtración esterilizante, a través de la medición de las variables como: pH, temperatura de filtración, presión de filtración, caudales promedios. Utilizando como herramienta de análisis: la estadística descriptiva, gráficas y cartas de control. Se concluyeron las siguientes condiciones estandarizadas para el producto de estudio: temperatura de 40 grados centígrados, presión constante de 30 PSI, pH medio de 6.87, tamaño de lote productivo de 150L. En relación a los medios filtrantes para el producto en análisis, se determinó que el producto es compatible con la membrana filtrante de polietersulfona, la naturaleza química de la membrana minimiza el riesgo de generar extractables aguas abajo del filtro (lixiviables); aumentando la eficiencia del proceso al generar un caudal de filtración promedio de 3.7 litros por minuto.

El análisis de capacidad de proceso sobre la variable crítica de cuantificación del activo en 20 lotes del producto (solución Dipirona 2g/5mL), generó los siguientes índices de capacidad de Proceso: Cp de 3.47, que al ser mayor al índice de 1.33 permite concluir que el proceso se encuentra bajo control, es decir los resultados de fabricación y filtración del producto utilizando la membrana de Polietersulfona son reproducibles lote a lote en temas de cuantificación del principio activo, es decir no existe pérdida de principio activo por el fenómeno de adsorción sobre la membrana filtrante. Para el caso del resultado de Cpk 3.17 menor a Cp 3.47, permite concluir que el proceso no se encuentra centrado, sino orientado hacia el límite de especificación superior; este resultado permite orientar al fabricante hacia una oportunidad de mejora en la naturaleza de la formulación del producto, con el fin de hacer los ajustes de principio activo para que los resultados se orienten a dos desviaciones estándar. Finalmente, el resultado de Cpm 2.36 mayor a 1,33; permite concluir que la media del proceso se encuentra dentro de la quinta parte media de las especificaciones.

El estudio de capacidad mostró también que la fabricación de la solución Dipirona 2g/5mL se encuentra bajo control estadístico y que es probable encontrar cero defectos por millón a corto y a largo plazo, lo cual afirma que el filtro no afecta al producto adsorbiendo parte del principio activo sobre su superficie.

En relación a la calificación del desempeño de la membrana filtrante, se realizaron pruebas de eficiencia microbiológica (método destructivo), con la inoculación de tres lotes piloto del producto de estudio denominado como peor caso Dipirona 2g/5 mL, con una cepa de un organismo endémico de la planta que mostró ser viable para la prueba al no ser inhibido su crecimiento al contacto con el producto sujeto al estudio, evitando generar sesgo en la investigación. Se realizó el cálculo de la máxima capacidad de retención microbiana para un área filtrante de 0.15m², la inoculación y saturación del producto con la cepa viable endémica de planta *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 cumplió con la característica de retener no menos de 1X10⁷ UFC/cm². Una vez inoculado el producto, se sometió a proceso de filtración esterilizante bajo condiciones estandarizadas, el reto microbiológico concluyó que la membrana Polietersulfona como medio filtrante, para el producto denominado como peor caso, produce aguas abajo del filtro una solución que cumple con especificación de esterilidad y endotoxina, evidenciando que la membrana cumple con la característica de ser grado esterilizante (0.20 µm) ABSOLUTO (β5000). El resultado de integridad de la membrana mediante métodos no destructivos conocidos como pruebas de integridad, fueron satisfactorias, la prueba del flujo difusivo tuvo como resultado un caudal promedio de: 3.08 mililitros/minuto, se toma como prueba satisfactoria cuando los caudales de gas son menores a la especificación del proveedor, que para el caso de las membranas utilizadas en el estudio corresponde a 4.40 mililitros/minuto.

En base a los puntos desarrollados en el plan maestro de validación del proceso de filtración esterilizante para el producto seleccionado como peor caso para el producto Dipirona 2g/5mL utilizando una membrana de polietersulfona, cumplen satisfactoriamente, se concluye que el proceso de filtración esterilizante se encuentra Validado.

II. INTRODUCCIÓN

Las preparaciones de soluciones parenterales son definidas por las farmacopeas como preparaciones estériles. Según la definición de esterilidad, una muestra se considera estéril, solamente cuando en ella hay ausencia de microorganismos viables. No es posible garantizar la esterilidad de un producto en función de un ensayo analítico realizado a una muestra de un lote manufacturado, sino, debe estar garantizada mediante ensayos y procesos validados que aseguren la reproducibilidad del resultado en el 100% del lote manufacturado. Considerando que la esterilidad, es un requerimiento regulatorio crítico en el aseguramiento de la calidad de un preparado parenteral, se encuentran plenamente documentadas las especificaciones y condiciones de procesamiento para la industria farmacéutica, definidas según diferentes normativas, como lo son: la Food and Drug Administration (FDA), Pharmaceutical Drug Agency (PDA), European Medicines Agency, Farmacopeas internacionalmente aceptadas, Health Industry Manufactures Association (HIMA), entre otras.

Cuando se utiliza la filtración como proceso de esterilización, las normas requieren tres elementos para asegurar la calidad de un filtro esterilizante. El primer elemento, es el uso de filtros certificados por el proveedor; el segundo elemento, son los ensayos de integridad con resultados consistentes con los datos generados en la validación, y el tercer elemento, es la validación del filtro con ensayos que simulan el proceso real de manufactura (Rodríguez, 2010).

En la base a lo anterior y partiendo del cumplimiento del primer y segundo elemento se valida el tercer elemento, es decir el proceso de filtración esterilizante simulando el proceso real de manufactura con producto. El objetivo propiamente dicho de la validación, es demostrar que, con el proceso estandarizado de filtración, la naturaleza fisicoquímica del producto, no afecta el rendimiento del filtro, y se obtiene siempre un producto que cumple con la especificidad de calidad predeterminedada, es decir cumple con especificación de esterilidad, sin comprometer los demás criterios de calidad (Agalloco, 2003).

El comité de expertos de la OMS, sobre Especificaciones para Preparaciones Farmacéuticas en el numeral 5.4 indica: Todos los procesos de esterilización deben ser validados. Por lo tanto, en cumplimiento a este requerimiento normativo, la industria farmacéutica dedicada a la preparación de medicamentos parenterales de bajo volumen debe establecer evidencia documentada que demuestre que la membrana filtrante permanece íntegra antes y después del proceso de filtración. Además de evidencia que la naturaleza fisicoquímica del producto y las condiciones ambientales del proceso (presión y temperatura) no afectan la estabilidad de la membrana.

El protocolo de validación permitió demostrar mediante pruebas experimentales que la naturaleza del producto no afecta la retención microbiológica, esto se comprobó a través de la inoculación del

producto con una concentración conocida de microorganismo de elección y la posterior filtración del mismo de acuerdo a los límites de retención dictados por el proveedor, se determinó que el efluente cumple con especificación de esterilidad y endotoxina.

Por medio de una revisión retrospectiva se evaluó si el filtro afecta al producto de manera que retenga parte del principio activo en su superficie.

Es importante hacer mención que el protocolo de validación del proceso de filtración esterilizante se fundamenta en el análisis de filtrabilidad realizado previamente por la industria farmacéutica en donde se realiza la investigación. El análisis de filtrabilidad aseguró la calificación previa de las membranas filtrantes mediante ensayos experimentales, concluyendo en que las membranas seleccionadas no producen lixiviación de materiales a los efluentes, para los fines de esta investigación este resultado es concluyente siempre y cuando se cumplan las siguientes premisas: que no exista cambio en la naturaleza de la membrana, que no se alteren las condiciones de proceso, y que no se reutilice la misma membrana para varios lotes productivos.

III. ANTECEDENTES

a. Filtración:

1. Principios de filtración

La filtración se define como la remoción de partículas de un fluido, sea líquido o gas, por el paso del mismo a través de un medio permeable (material poroso o fibroso). El medio presenta poros interconectados entre sí para que se dé el paso del fluido. La esterilización de líquidos por medio de la filtración se logra por el paso del líquido a través de un material capaz de retener los microorganismos presentes, se emplea para aquellos materiales sensibles al calor y la función de un filtro es remover los contaminantes indeseados. Existen tres fuentes de contaminantes.

- a) La generada por el propio sistema a través del desgaste.
- b) La que entra al sistema a través de una fuente externa o el ambiente.
- c) La que se encuentra acumulada en los fluidos. (McBurnie, 2004)

Los filtros remueven partículas de cierto tamaño, su eficiencia se basa en el tamaño de las partículas que son removidas del sistema. Filtros con baja eficiencia permiten que los contaminantes fluyan por el sistema y filtros con alta eficiencia pueden saturarse con mayor rapidez, originando un intervalo de recambio más corto (McBurnie, 2004).

Cualquier filtro colocado en un sistema es un obstáculo para el paso del fluido a través del mismo. A esto se le llama restricción. Esta restricción se expresa como diferencial de presiones y es la diferencia de presiones antes del filtro y después del mismo (PDA, 1998).

2. Tipos de filtración

Podemos clasificar los tipos de filtración de los líquidos de acuerdo al tamaño de partícula que pueden retener:

- a) Filtración clarificante - Su finalidad es obtener disoluciones transparentes mediante retención de partículas de hasta 10 μ m.
- b) Ultrafiltración - Su finalidad es separar macromoléculas y partículas coloidales, de moléculas orgánicas disueltas de bajo peso molecular. Entre 0,001 y 0,1 μ m.
- c) Osmosis inversa - El paso de agua a través de una membrana semipermeable, con ayuda de presión. De esta forma se retienen partículas de 0,002 -0,003 μ .
- d) Filtración esterilizante - Su finalidad es obtener productos estériles, se utiliza en productos termolábiles, retienen partículas de hasta 0,22 μ m. (Agalloco, 2003).

3. Filtración esterilizante

La filtración esterilizante es el proceso de remoción completa de microorganismos (excepto virus), de un fluido. Un filtro grado esterilizante debe remover todos los microorganismos presentes en un fluido sin afectar la calidad del producto en forma adversa.

- a) Funcionamiento de un filtro grado esterilizante: Es ampliamente sabido que los filtros trabajan permitiendo que un fluido pase a través de sus poros, reteniendo partículas de gran tamaño que no son capaces de atravesar estos poros. Este mecanismo de arresto o captura de partículas es llamado de varias maneras como retención por tamiz, captura física, intercepción directa, exclusión por tamaño, etc. Este punto de vista se basa en el axioma de la geometría, que una partícula tan grande para encajar en un poro es incapaz de pasar a través de él. La exclusión por tamaño, es importante, y quizás para filtros esterilizantes el más confiable mecanismo de acción filtrante, puede que no sea el único. De hecho, partículas lo suficientemente pequeñas para entrar y pasar a través de los poros de un filtro pueden ser capturados por adsorción a las paredes de los poros. Otros mecanismos de remoción de partículas incluyen, pero no son necesariamente limitados a secuestro por adsorción, impacto por inercia e intercepción difusional. Las partículas pueden ser lo suficientemente pequeñas para entrar en el poro del filtro, pero aun así pueden ser capturados por el filtro, indicando que la retención de partículas puede depender de otras condiciones de funcionamiento que rigen la filtración. Estos efectos son importantes si se encuentran presentes bacterias de menor tamaño del poro (PDA, 1998).

La efectividad de los mecanismos de adsorción por secuestro depende de las condiciones de filtración. Muchas condiciones operacionales diferentes gobiernan la remoción de partículas por adsorción de los filtros, incluyendo el diferencial de presión aplicado, caudales, número de partículas presentes, y las características del líquido en términos de tensión superficial, pH, fuerza iónica, entre otros factores. Todos deben ser considerados y entendidos en la validación de un filtro (McBurnie, 2004).

- b) Factores que afectan la capacidad de retención microbiana para un filtro grado esterilizante:
- i. Bioburden - Puede definirse como la carga microbiológica total presente en un medio. En situaciones donde no todos los contaminantes son retenidos por exclusión de tamaño, el resultado se puede decir que es probabilístico. La figura 1 muestra una bacteria (partícula) más pequeña que el tamaño del poro

entrando al poro. La bacteria puede atravesar el poro para salir con el flujo, o tropezar con la pared del poro y adsorberse arrestado por las fuerzas de Van der Waals, o fuerzas de valencia residuales o secundarias. La situación que prevalezca es resultado de probabilidades. Independientemente del nivel de desafío para un filtro que no está obstruido, la probabilidad de que cualquier partícula penetre es la misma para cualquier partícula idéntica. Cuanto mayor es el número de partículas (bioburden), es decir, cuanto mayor es la densidad de desafío, más probable es que algunas partículas escapen a la captura. Cuanto menor es el bioburden frente al filtro, mejor se comporta el filtro (PDA, 1998).

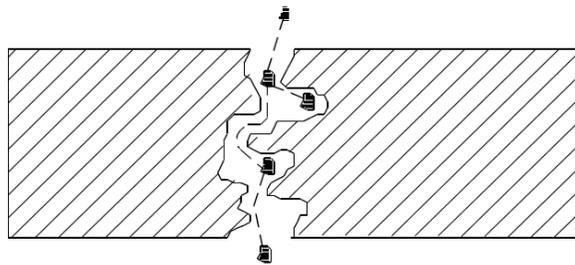


Figura 1 Caminos alternativos para la entrada de partículas en un poro (PDA, 1998)

Se debe enfatizar en que el nivel de bioburden puede influenciar la eficiencia del proceso de filtración. Por esta razón el bioburden debe mantenerse tan bajo como sea posible en cada etapa del proceso. Los filtros exhiben su máxima eficiencia cuando el bioburden es mínimo. Dicho de otra forma, la probabilidad del paso de microorganismos es minimizado cuando el bioburden es bajo. El bioburden debe ser monitoreado rutinariamente (FDA, 1998).

- ii. Diferencial de Presión - Los efectos del diferencial de presión también deben ser considerados. Mientras menor es el diferencial de presión, mayor es la probabilidad de retención de los organismos. Mientras mayor es el tiempo que una partícula u organismo permanezca en el paso a través del poro, mayor es la probabilidad de tropezar con la pared del poro y ser adsorbida. Por el contrario, a una presión diferencial más alta, la velocidad del líquido a través del poro aumenta y la estancia disminuye, resultando en una disminución de la probabilidad de captura. Existe, por lo tanto, una naturaleza probabilística para la captura por adsorción, expresada por la relación inversa del secuestro por adsorción con el nivel de presión diferencial (Galeano, 2007).
- iii. Otros Factores que Afectan - Para partículas no retenidas por exclusión de tamaño, varios investigadores han mostrado que propiedades tales como pH, tensión superficial, fuerza iónica y viscosidad pueden influenciar la retención

por membranas microporosas. Tal dependencia puede ser indicativa de retención por adsorción. El vehículo también puede afectar las bacterias presentes, cambiando su tamaño o morfología. Tales cambios pueden resultar en un filtrado no estéril (Galeano, 2007).

b. Tipos de filtros según su composición y diseño:

1. Filtros de membrana hidrófoba e hidrófila:

Actualmente los materiales disponibles de fabricación incluyen (pero no se limitan a polímeros) tales como ésteres de celulosa, nylon, poliésteres, politetrafluoroetileno, fluoruro de, polipropileno, policarbonato, polisulfona y polietersulfona. Los componentes menores, tales como tensioactivos pueden ser agregados al filtro para mejorar la humectabilidad, o hacer que la membrana del filtro sea hidrófilo o hidrófobo (PDA, 1998).

Que la membrana del filtro sea hidrófoba significa que los poros de la membrana no son fácilmente penetrados por el agua o corrientes acuosas. Que la membrana del filtro sea hidrófila significa que los poros de ésta sean fácilmente penetrables por el agua o fluidos acuosos. Además, si el filtro es hidrófilo o hidrófobo afecta en gran medida su capacidad de servir adecuadamente en un determinado proceso. En general, los filtros hidrófilos se utilizan para los procesos de líquidos de base acuosa y filtros hidrófobos se utilizan para aplicaciones de disolvente, de ventilación y de gas. Existen filtros de poros cuyas dimensiones aumentan con la presión diferencial (típicamente los ovillados, fieltros de baja densidad, placas de celulosa, etc.) y filtros de poros fijos indeformables, en los cuales el tamaño de las aberturas no aumenta con la presión diferencial (PDA, 1998).

2. Filtros de profundidad:

Estos filtros están elaborados por un material fibroso (papel, asbesto, o fibra de vidrio) dispuestos al azar, de manera que dentro de la estructura del filtro se crean vías tortuosas donde pueden quedar retenidos la mayoría de los contaminantes presentes.

Entre sus ventajas se encuentran su alta capacidad de retención de partículas sobre su superficie y a través de toda su estructura y que permiten filtrar grandes volúmenes. Sin embargo, tienen como desventajas que no presentan un tamaño de poro uniforme y existe la posibilidad de liberación, hacia el material filtrado, de partículas y microorganismos que hayan crecido dentro del filtro. Dadas sus características los filtros de profundidad se usan principalmente como pre filtros, ya que permiten eliminar las partículas grandes, pero no la eliminación total de microorganismos (Jordan, 1959).

3. Filtros de superficie o filtros de membrana:

Son filtros elaborados generalmente de acetato de celulosa o nitrato de celulosa y contienen poros de tamaño uniforme. Este tipo de filtro tiene como ventaja que, al conocer exactamente el tamaño de poro que presentan, se pueden seleccionar filtros capaces de retener la totalidad de los microorganismos presentes en una solución. Sin embargo, se saturan rápidamente y la velocidad de filtración a través de ellos es lenta (Agalloco, 2003).

c. Caracterización y selección de los filtros:

Seleccionar un filtro grado esterilizante requiere considerar muchos puntos importantes, como lo son los materiales de construcción y la compatibilidad con el producto. La selección también debería considerar las características del proceso, incluido el volumen de producto a filtrar, el caudal, la presión diferencial, la temperatura y las características químicas del producto (Lukaszewicz, 1981).

La adecuada selección de los filtros mediante la metodología de filtrabilidad estandarizada, constituye una de las concepciones técnicas más importantes. Es importante considerar para la elección del filtro para una dada aplicación lo siguiente:

1. Configuración de los filtros

Durante la evaluación de un filtro, es mejor considerar todas las variables de proceso, así como el área de la superficie del filtro y la configuración puede ser seleccionada. Hay tres tipos básicos de configuración de filtros generalmente aceptados para esterilización de productos son, como se muestra en figura 2: membrana plana, cápsulas preensambladas, y cartuchos de membrana ensamblados.

Las membranas planas se han usado por muchos años. Las membranas individuales en soportes reutilizables generalmente se consideran adecuadas para la filtración en pequeña escala. Ensamblados de discos múltiples son adecuados para la filtración de grandes volúmenes. Sin embargo, existen muchas ventajas de trabajar con pequeños cartuchos o cápsulas, que son más prácticas y más fáciles de manejar que las membranas planas. Operaciones de mediano tamaño tales como el desarrollo de escala piloto o manufactura clínica son buenos candidatos para uso de filtros de cápsula desechable y autocontenidos, mientras que los filtros de cartucho deben considerarse para operaciones o procesos de mayor escala. La superficie apropiada de área filtrante para una aplicación particular de esterilización puede ser estimada desde experimentos de laboratorio utilizando membrana filtrante idéntica (PDA, 1998).

2. Desprendimiento de partículas (Extractables):

La contaminación por partículas del filtro y el proceso debe ser evaluado y considerado, ya que todos los filtros pueden desprender partículas. El ensayo debe ser conducido a varios caudales para seleccionar el filtro apropiado y establecer las variables del proceso (FDA, 1998).

- a) Extractables: La USP resalta una serie de ensayos y guías para extractables de plásticos. Típicamente, la mayoría de candidatos de filtros pasarán estos ensayos, pero un número relativo de candidatos puede proveer información valiosa. Fuentes potenciales de extractables de filtros esterilizantes pueden incluir surfactantes y agentes de mojado, aditivos usados entre los componentes de manufactura, residuos de la manufactura, y oligómeros de materiales de construcción (PDA, 1998).

Los productores pueden proveer información apropiada sobre niveles de extractables e identidad de sus filtros. Esto puede ayudar a los usuarios a identificar componentes extractables en el filtrado de sus productos. Los extractables pueden ser clasificados como tóxicos o no tóxicos, y debe demostrarse que son no tóxicos. Es la responsabilidad del usuario demostrar que el producto no contiene niveles objetables de extractables del filtro. Las condiciones del proceso, incluida la esterilización, debe considerarse al llevar a cabo estudios de extractables (PDA, 1998).

Técnicas analíticas adecuadas para medir niveles y tipos de extractables incluyen "carga" métodos analíticos I, tales como residuos no-volátiles y espectroscopia infrarroja de Fourier (FTIR) aplicada a un extracto sin fraccionamiento, para evitar posibles pérdidas de analitos desconocidos en la prueba. Técnicas analíticas adecuadas para próximas mediciones de niveles y tipos de extractables incluyen cromatografía de gas (GC), cromatografía líquida de alta presión (HPLC), electroforesis capilar (HPCE) y cromatografía espectrometría de gases (GC-MS). Según métodos estandarizados (PDA, 1998).

La mayoría de los fabricantes de filtros evalúan extractables usando solvente estándar (generalmente agua). El usuario del filtro es responsable de obtener información sobre extractables para la formulación del producto farmacéutico. Cuando la formulación del producto excluye el uso de metodología estándar analítica, se debe utilizar un modelo adecuado para medir los niveles de extractables. El modelo debe, sin embargo, exhibir características físicas y químicas (PDA, 1998).

- b) Lixiviados: Son componentes que lixivian de materiales de plástico o elastómeros en presencia del producto bajo condiciones de uso normales. Determinado con el producto bajo condiciones normales de proceso/ almacenamiento. La evaluación de lixiviados comienza con un estudio de extraíbles definido. Se identifican y cuantifican el mayor número posible de compuestos que migran desde los sistemas de filtración a el producto real. Cuando es posible, los lixiviados deben ser evaluados cuando el paso final en el proceso de producción es la filtración esterilizante antes del llenado. (PDA, 2008)

3. Compatibilidad química

Cuando se considera la compatibilidad química, es importante incluir todos los componentes del sistema filtrante bajo investigación. Además de la membrana, este incluye materiales de soporte para la membrana, carcasa del cartucho y material del housing, y anillos usados para sellar el cartucho y housing (Galeano, 2007).

Numerosas posibilidades de interacciones químicas existen en un sistema filtrante. Los efectos de estas interacciones deben ser caracterizadas adecuadamente previo a la selección del filtro. Un simple cuadro de compatibilidad química a menudo proveerá suficiente información para predecir compatibilidades del sistema filtrante (Agalloco, 2003).

4. Resistencia al estrés térmico

El vapor es uno de los más utilizados métodos de esterilización para filtros. Es extremadamente importante que la membrana del filtro y estructuras de soporte sean estables bajo la presión de esterilización por vapor, temperatura y condiciones del tiempo del proceso. Además, muchos procesos pueden requerir que el producto se filtre a elevadas temperaturas. De nuevo, el filtro debe resistir a los rigores del proceso (PDA, 1998).

5. Resistencia al estrés hidráulico

Durante la filtración del filtro sufrirá diferentes variantes en los requerimientos de presión. Puede experimentar bajas hasta extremadamente altos diferenciales de presión, debido a las características del proceso del producto. Durante la validación, el proceso la presión del proceso debe ser aproximada. Si el filtro será sujeto a alto estrés hidráulico, debería de simularse en la validación del proceso (PDA, 1998).

6. Pruebas de reto microbiológico

El reto bacteriológico tiene dos grandes funciones. El fabricante del filtro lo utiliza para clasificar los filtros como grado esterilizante si el filtro provee un efluente estéril con un mínimo de 10^7 células de *B. diminuta* ATCC 19146/cm² de área efectiva de superficie del filtro (Agalloco, 2003).

La prueba del reto microbiológico es requerida también para validar el proceso de filtración esterilizante de un producto específico. La prueba del reto del filtro debe ser llevada a cabo con el producto o cuando se justifique un adecuado fluido en sustitución (Agalloco, 2003).

La mejor manera de evaluar si un filtro de membrana individual puede producir un efluente estéril es retar al filtro con un número grande de organismos y medir la retención. Desafortunadamente, ese es un proceso destructivo que deja el filtro de prueba contaminado con los organismos de ensayo y posteriormente inutilizable para la filtración de producto. Es posible, sin embargo, evaluar la idoneidad de la acción filtrante de un filtro sometándolo a pruebas de integridad no destructivas, las cuales pueden ser correlacionadas con la retención microbiana. Según la FDA un filtro grado esterilizante se ha definido como un filtro que retiene, 107 UFC de *B. diminuta* ATCC 19146/cm² de superficie efectiva del filtro, bajo condiciones específicas (McBurnie, 2004).

7. Pruebas de integridad física

Las pruebas de integridad se requieren para todas las aplicaciones de filtración esterilizante. Las pruebas de integridad física son basadas en el rango de flujo de gas a través del filtro húmedo con un líquido adecuado, como una función de la presión de prueba aplicada. Se encuentran disponibles pruebas manuales y automáticas. El método de prueba elegido y el criterio aceptado debe ser validado y debe ser correlacionado con la retención bacteriana (PDA, 1998).

d. Características físicas y mecánicas:

Se debe de considerar una serie de características en la selección de los filtros grado esterilizante. La compatibilidad en el proceso depende principalmente de los materiales de construcción de la membrana, soportes aguas arriba y aguas abajo del filtro, materiales de encapsulación y sellos del cartucho. Además de los materiales de construcción hay otra serie de características que deben considerarse en las membranas grado esterilizante, que afectan la compatibilidad del filtro con la naturaleza del producto en un proceso de manufactura, factores como elementos extractables que puedan migrar de la membrana hacia el efluente, absorción del principio activo sobre la superficie de la membrana y en algunos casos ciclos múltiples de esterilización para procesos de manufactura en línea. Es por ello que los filtros deben ser validados para cada uso previsto, incluyendo el proceso de esterilización, caudales y tiempos de filtración. Los componentes de fabricación de los filtros deben cumplir con los requisitos de compendio aplicables tales como las pruebas de reactividad biológica USP, capítulos generales <87> y <88>. Adicional a las características de los componentes de fabricación existen otras que pueden afectar directamente la eficiencia del sistema en las

cuales se incluyen: las dimensiones físicas, configuración, diseño final de tapa (cartuchos), y conexiones finales (cápsulas) (PDA, 1998).

1. Velocidad de filtración y obstrucción (rendimiento):

Los caudales de los filtros esterilizantes miden la cantidad de fluido que pasa a través de un área dada, tal como un pie cuadrado de área de un cartucho o cápsula en un periodo de tiempo dado, usualmente un minuto a una presión dada. Los volúmenes del flujo normalmente son medidos en términos de galones, litros o mililitros. Las características del flujo de un filtro son determinadas por el área de la superficie de la membrana y la permeabilidad de la membrana. La permeabilidad de la membrana es determinada principalmente por el total de poros, grosor de la membrana, y, en un menor grado, el tamaño efectivo del poro (Jordan, 1959).

Existen varias relaciones básicas entre la tasa de flujo y su porosidad, grosor, tamaño de poro efectivo y el área de superficie. La tasa de flujo es proporcional al área superficial de su membrana, pero puede ser no lineal. Generalmente, existe una relación inversa entre el ancho de la membrana y el flujo. La tasa de flujo tiene una relación directa con el tamaño de poro efectivo de la membrana.

El rendimiento o la vida de un filtro esterilizante generalmente está determinado por la capacidad de la membrana de retener partículas, y la cantidad de área superficial expuesta al proceso. Así como el filtro remueve partículas y bacterias, el flujo empieza a reducirse, a menos que la presión diferencial aumente. La vida útil del filtro esterilizante es medida por la cantidad de tiempo que el filtro soporta el flujo, antes de un diferencial de presión no aceptable o que ocurra la pérdida de flujo (PDA, 1998).

2. Compatibilidad fluido/filtro

Existen muchas posibles interacciones entre el fluido en un proceso y un filtro esterilizante. Las consecuencias de estas interacciones pueden manifestarse en una variedad de cambios medibles. Si el fluido y la membrana son drásticamente incompatibles, puede darse degradación física de la membrana hasta grandes defectos de la membrana que reducirían la eficiencia de la filtración y causarían contaminación de manera que el filtro derrama partículas aguas abajo (PDA, 1998).

Muchos tipos de polímeros de membrana también pueden expandirse en presencia de ciertos tipos de químicos, los cuales pueden afectar ambos fluidos y valores de pruebas de integridad física. Adicional al efecto perjudicial de un flujo reducido a través de la membrana, cambios en los resultados de integridad física pueden causar problemas acerca de la estructura de la membrana y su habilidad para retener partículas (PDA, 1998).

3. Limitaciones físicas y estructurales

Los filtros son limitados por su fuerza física y habilidad de retención bajo las condiciones de estrés del proceso. Existen muchos aspectos sobre la presión que deben ser considerados. Es importante asegurar la presión de entrada al filtro que no haya deformación estructural potencial para la estructura de soporte. El diferencial de presión a través de la membrana debe ser medida para cumplir con los límites recomendados por el fabricante. La presión diferencial máxima normalmente está situada en función de la temperatura (Rodríguez, 2010).

Otro aspecto que debe ser considerado es la dirección de la presión aplicada. Los filtros pueden tener diferentes presiones diferenciales máximas en direcciones de flujo hacia delante y hacia atrás. Estos diferenciales de presión también pueden ser dependientes de temperatura. Por ejemplo, un límite máximo de diferencial de 75 psi (5 bar) a 25 grados centígrados en dirección hacia delante contra un diferencial de 50 psi (3.5 bar) en la dirección inversa a 25 grados centígrados y un límite máximo de un diferencial de 5 psi en cualquier dirección a 121 grados centígrados (PDA, 1998).

e. Validación de filtros esterilizantes/ retención bacteriana (método destructivo):

El test de reto bacteriano, usando el método ASTM F838-83 o una metodología comparable, se lleva a cabo por el fabricante del filtro para clasificar la capacidad de retención de la membrana. El usuario, entonces, demuestra la completa remoción microbiológica de cada producto o familia de productos usando un microorganismo de prueba representativo. Es importante darse cuenta que estos dos conceptos de test de filtros no son intercambiables y deben ser validados independientemente. El objetivo de estos es probar que el proceso productivo genera un efluente estéril (PDA, 1998).

1. Factores que influyen en la retención microbiana

Los factores que influyen potencialmente la retención microbiana incluyen el tipo de filtro (estructura, polímero base, modificaciones químicas de la superficie, distribución del tamaño de poro, grosor), componentes del fluido (formulación, surfactantes, aditivos) propiedades del fluido (p H, viscosidad, osmolaridad, fuerza iónica), condiciones del proceso (temperatura, presión diferencial, caudal, tiempo) y las características específicas del bioburden actual del producto (Agalloco, 2003).

Se debe también considerar el potencial de las formulaciones del producto o las condiciones del proceso que afectan el tamaño de la célula u otros atributos fisiológicos o morfológicos de los microorganismos, los cuales puedan permitir su paso (Agalloco, 2003).

2. Consideraciones para los estudios de validación de retención bacteriana

La validación del proceso de filtración esterilizante debería incluir “el peor caso” usando un filtro de membrana o instrumento seleccionado. Debería considerarse lo siguiente cuando se realice la validación de la retención bacteriana del producto en filtros de membrana:

- a) De ser posible, al menos tres lotes de filtros de membrana deberían incluirse en el estudio de retención bacteriana en producto. El número exacto de filtros y el diseño del test dependerá del proceso.
- b) Al menos uno de los lotes de filtros de membrana usados para la validación de la retención bacteriana debería tener una pre-filtración, líquido humectante, valores de test de integridad en o cerca de los límites de las especificaciones del fabricante, otros parámetros del filtro, incluidos grosor, deberían ser representativos de las membranas típicas de producción.
- c) Las membranas usadas por fabricantes de filtros de proceso deben reunir o exceder los valores de test de integridad establecidos durante el test de retención bacteriana con producto.
- d) Los valores de test de integridad física de las membranas de estudios de validación de retención microbiana deben ser incluidos en el reporte de prueba. La integridad física debe ser determinada antes del reto de prueba, usando agua, producto o cualquier líquido de prueba que posea especificaciones.
- e) Si el organismo de prueba se recupera aguas abajo del filtro después del reto microbiano, se debe llevar a cabo una investigación. Si la investigación confirma la penetración del filtro por el organismo de prueba, y el filtro reúne sus especificaciones de prueba, entonces la aplicabilidad de este filtro bajo estas condiciones de proceso debe de considerarse (Agalloco, 2003).

3. Criterios de selección del organismo de prueba

El reto microbiano debería ser lo suficientemente pequeño para retar la retención del filtro grado esterilizante y simular el microorganismo más pequeño que pueda aparecer en la producción. Un filtro grado esterilizante se define como aquel que retiene un mínimo de 10 UFC de *P. diminuta*/cm² de superficie del filtro (FDA, 1987). La FDA no recomienda algún protocolo u organismo de reto para validar el proceso de filtración esterilizante para un producto dado. La idoneidad de un protocolo de prueba de retención bacteriana utilizado para validar procesos de esterilización específicos del producto usando filtración se considera individualmente.

Históricamente, *P. diminuta*, recientemente reclasificada a *Brevundimona diminuta* ATCC 19146, ha sido seleccionada como el microorganismo de elección para ser usado como reto. Para usar *B. diminuta* en el reto debe de confirmarse que su diámetro sea de 0.3 - 0.4 μm por 0.5-1.0 μm en longitud. El tamaño del organismo de prueba debe confirmarse demostrando su paso a través de una membrana de 0.45 μm como un control positivo para cualquier reto que se lleve a cabo de *B. diminuta* (FDA, 1998).

4. Concentración efectiva del reto

La concentración del reto microbiano debería proporcionar un reto uniforme sobre el tiempo de proceso esperado para producir un nivel de desafío final de al menos 10^7 UFC/cm² del área de superficie del filtro. Es crítico que todos los parámetros del proceso sean considerados en el cálculo de la concentración de desafío, incluyendo el caudal, tiempo y presión. Concentración del desafío (UFC/ml) no debe confundirse con nivel de desafío (UFC/cm²) (Agalloco, 2003).

5. Nivel del reto

Las membranas clasificadas a 0.45 μm pueden proveer un efluente estéril con un nivel de desafío de *B. diminuta* $<10^7/\text{cm}^2$. Un nivel de desafío $\geq 10^7/\text{cm}^2$ es por lo tanto el requerimiento mínimo para un filtro grado esterilizante (históricamente, un filtro clasificado en 0.2 μm). Este nivel se deriva de las observaciones de Bowman, que la *P. diminuta* podía penetrar una membrana clasificada 0.45 μm a un nivel de desafío $>10^4$ - 10^6 UFC/cm², y su sugerencia para calificar membranas clasificadas de 0.2 μm como “grado esterilizante” con *P. diminuta* a $10^7/\text{cm}^2$ para asegurar una sensibilidad mínimamente suficiente para detectar poros más grandes (Fennington, 1997).

6. Viabilidad del organismo de prueba

La viabilidad del organismo de ensayo se verificará por inoculación directa en el producto. Es recomendado que el microorganismo para ensayo de viabilidad se cultivará de la misma manera que el utilizado para pruebas de desafío, con el fin de preservar sus características morfológicas y fisiológicas. El tiempo de exposición de la prueba debe ser igual o superior al tiempo de filtración del proceso real. Si después de la exposición no se observa más de una reducción logarítmica en el recuento, la formulación puede considerarse no bactericida. Si se observa una reducción en la concentración microbiológica de más de un registro, el producto debe considerarse bactericida y se puede considerar una metodología de prueba alternativa (Agalloco, 2003).

7. Procedimiento de prueba y desarrollo de protocolos

Una vez establecida la viabilidad del organismo de ensayo dentro del producto, el desafío apropiado debe de desarrollarse. Para cualquier procedimiento de prueba seleccionado, las condiciones de prueba deben simular el proceso de producción lo más cerca posible. Dado que la prueba de desafío generalmente se realiza en un laboratorio, la metodología se escala en consecuencia. El caudal puede ser escalado por unidad de área, expresado en ml/cm² de superficie de filtro. Si la filtración es regulada por la presión, la presión de prueba debe ser igual a la presión de procesamiento (PDA, 1998).

8. Interpretación de resultados

Los retos efectivos de las membranas esterilizantes con *B. diminuta* o bioburden nativo deberían lograr niveles totales de al menos 10⁷ UFC/cm² de área efectiva de filtración, y demuestran un efluente estéril. Si se excede la capacidad de presión del filtro antes de alcanzar el reto de 10⁷ UFC/cm², la prueba debería darse por terminada y el desafío total determinado. Los lotes de membrana del fabricante pueden considerarse suficientes repeticiones para demostrar la repetibilidad. Para ser aceptable como filtro esterilizante, no se permite ningún paso del organismo en los tres filtros de prueba y los controles positivos y negativos deben ser válidos. Si se encuentra el pasaje y no se puede determinar la causa asignable, puede ser necesario reevaluar para confirmar la penetración (PDA, 1998).

Si se puede determinar una causa asignable para el fallo, es posible volver a probar el lote sospechoso. Un mínimo de tres filtros del lote sospechoso debe ser corrido nuevamente. Para cumplir con la prueba, no es permisible el paso de ningún microorganismo de desafío (PDA, 1998).

9. Bioburden del producto

La carga biológica nativa siempre debe ser identificada, caracterizada y cuantificada, ya que estos organismos pueden tener el potencial de penetrar filtros de grado esterilizante. La cuantificación de Bioburden proporciona una base para el cálculo del desafío real en el proceso de fabricación farmacéutico. El cálculo de la bio-carga sobre una base de área se puede realizar. La bio-carga específica de área $B = BV / A$, donde B es el recuento microbiano (UFC/ml), V es el volumen total de la corriente de proceso a ser filtrada (ml), y A es la superficie total del filtro en cm². Si el valor de B se aproxima o supera el valor de desafío validado, existe el riesgo de que se produzca el paso microbiano. Por lo tanto, B debe mantenerse significativamente por debajo de este límite validado para minimizar el potencial de producto no estéril. La morfología de los organismos aislados también debe ser considerada en la determinación de un factor de seguridad. El mejor

medio para controlar este nivel de desafío biológico al filtro es controlando la materia prima, bioburden y / o proceso (PDA, 1998).

f. Pruebas de integridad (método de validación no destructivo)

1. Teoría de pruebas de integridad

El objetivo principal de una prueba de integridad física no destructiva es determinar la presencia de poros de gran tamaño o defectos que comprometen la capacidad de retención de un filtro dado sin destruir el filtro. Tales procedimientos de prueba deben correlacionarse con la retención bacteriana. La prueba de retención bacteriana es una prueba destructiva y no se puede utilizar para verificar la integridad de un filtro que se utilizará en la producción (Agalloco, 2003).

Las membranas microporosas típicas usadas para aplicaciones de esterilización son estructuras porosas no fibrosas. Aunque los poros son generalmente de forma irregular, su formación se caracteriza por un poro dado con una buena distribución de tamaño. Estos poros de forma irregular tienen diámetros efectivos. El tamaño eficaz de los poros es una variable clave en el proceso de retención. Para que el paso de un contaminante específico tenga lugar, debe ser una abertura (poro o defecto) que permita que el contaminante pase a través del filtro. El Fabricante del filtro debe establecer límites de prueba de integridad física para un determinado tipo de filtro. Las propiedades de flujo de gas de las membranas de filtro mojadas se pueden evaluar en una gama de presiones. Después completamente humectando toda la membrana filtrante, se introduce gas en el lado aguas arriba de la membrana a baja presión. Las fuerzas capilares impiden que el líquido sea expulsado de los poros (PDA, 1998).

La mayoría de las pruebas de integridad tradicionales se basan en el hecho de que al humedecer la membrana del filtro con un líquido reduce el flujo de un gas de prueba a través de él, particularmente a bajas presiones de prueba. Como la presión es aumentada en el lado aguas arriba del filtro (con el lado aguas abajo abierto a la presión atmosférica), el gas aguas arriba puede disolverse en el líquido humectante. Dado que sólo la presión atmosférica está aguas abajo del filtro, el gas puede salir de la solución porque la presión del gas es menor aguas abajo. Este gradiente de concentración de gas, debido a la presión del gas en el lado aguas arriba, permite la difusión a través de la membrana humedecida. La difusión aumentará a medida que la presión se incrementa del lado aguas arriba (PDA, 1998).

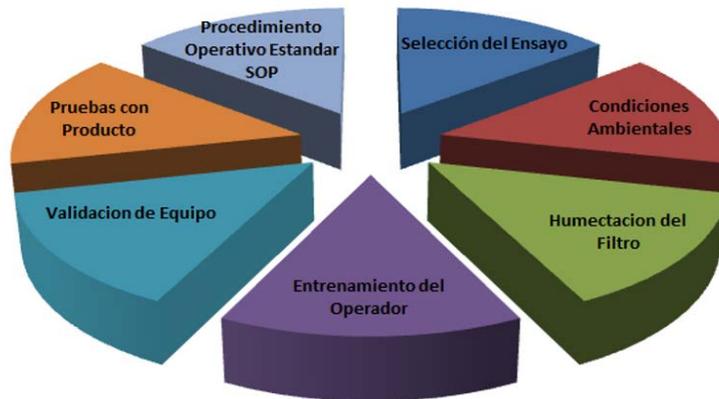


Figura 2. Consideraciones para prueba de integridad. (Millipore,2001).

2. Punto de burbuja

La prueba de punto de burbuja se basa en el hecho de que el líquido es sostenido en los poros del filtro por la tensión superficial y las fuerzas capilares. La presión mínima requerida para forzar líquido fuera de los poros es una medida del diámetro de poro (Millipore, 1999).

Esta prueba permite relacionar el tamaño de poro con la presión a la que aparece el primer burbujeo continuo. Esta presión obedece una fórmula donde influyen la presión y el tamaño del poro, la tensión superficial y el ángulo de contacto del menisco líquido que depende de la naturaleza del material filtrante, así como del líquido (Covo, 2010).

El punto de burbuja indica la magnitud de las fuerzas que retienen el líquido en la estructura del filtro. Puede describirse con la siguiente ecuación:

$$pb = \frac{4 \cdot k \cdot \sigma \cos \theta}{d}$$

Donde:

k= factor de corrección

σ =tensión superficial

θ =ángulo de contacto

d=diámetro del poro

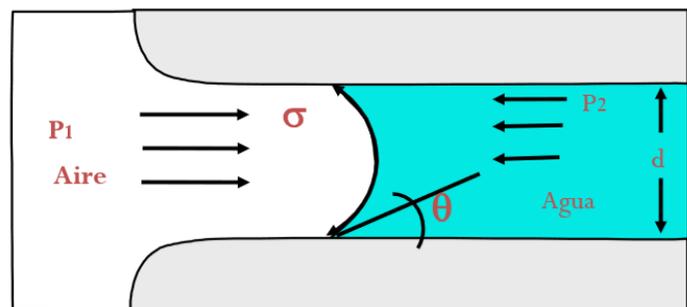


Figura 3. Punto de Burbuja (Fennington,1997)

3. Flujo difusivo

A presiones de gas diferenciales por debajo del punto de burbuja, las moléculas de gas migran a través de los poros llenos de agua de una membrana húmeda siguiendo la Ley de Difusión de Fick (FDA, 2011)

Esta ley enuncia que el flujo difusivo que atraviesa una superficie es directamente proporcional al gradiente de concentración (Universidad Complutense de Madrid, 2007). La tasa de flujo de difusión de gas para un filtro es proporcional a la presión diferencial y a al área de superficie total del filtro. A una presión aproximadamente 80% del punto de burbuja mínimo, el gas que se difunde en la membrana es medido para determinar la integridad del filtro (Millipore, 2001).

g. Validación Retrospectiva de Proceso:

1. Aspectos Favorables y Desfavorables de la Validación

La validación retrospectiva de proceso se basa en la recopilación de datos históricos de un producto farmacéutico, a partir de los cuales se obtiene documentación útil para la determinación de la reproducibilidad de dicho proceso. Por esto, para la obtención de información no es necesario aplicar ensayos analíticos, ni tampoco se requiere de una supervisión del proceso en forma explícita, lo que la hace una metodología económica en comparación con otros tipos de validación. En la industria farmacéutica existen muchos productos que han sido fabricados por largo tiempo sin presentar problemas de manufactura, análisis u otro. Sin embargo, en la actualidad se exige que esa calidad demostrada en el tiempo sea documentada de manera adecuada. Para estos productos, la validación retrospectiva de sus procesos de manufactura ofrece una excelente alternativa para asegurar la entrega de la misma calidad en el futuro si se mantienen invariables las etapas del proceso validado. Por otra parte, dentro de los aspectos desfavorables que pudiese encontrar esta metodología de trabajo están los inconvenientes en la recolección de datos, puesto que existen empresas que no cuentan con sistemas automatizados que permitan una rápida recopilación de éstos, haciendo larga y engorrosa esta tarea. El trabajar con datos acumulados en el tiempo que contienen el registro de mediciones obtenidas por distintos operarios, da la posibilidad de que esos datos tengan un cierto grado de error, sumado a la variabilidad intrínseca de las mediciones y a la veracidad de estos registros, podrían restarle veracidad de los resultados finales del estudio. A pesar de presentar algunos inconvenientes, esta metodología de trabajo está siendo considerada como una gran alternativa para la optimización de la calidad (González, 2005).

2. Criterios y Requisitos para la Validación Retrospectiva:

No todos los procesos son aptos para ser validados en forma retrospectiva, por esto se debe elegir los productos cuyos procesos cumplan con ciertas características:

- a) Productos que no han sido sometidos a validación de ningún tipo anteriormente.
- b) Productos que se sigan fabricando en la actualidad, independientemente de su frecuencia.
- c) Productos de los cuales exista un registro de su manufactura. Se recomienda que sean 20 los lotes producidos en forma consecutiva los que sean sometidos a estudio, ya que es un número que permite tener conclusiones estadísticas confiables.
- d) Los lotes deben ser del mismo tamaño, haber sido fabricados bajo el mismo procedimiento de manufactura, se debe haber utilizado los mismos equipos, y de existir algún cambio, éste no debe ser significativo, es decir, deben tener una manufactura constante a lo largo del tiempo.
- e) Los equipos utilizados tanto en la manufactura como en los controles del producto deben estar calificados.
- f) El personal involucrado en la manufactura y en el control del producto debe estar debidamente capacitado y poseer experiencia en el procedimiento que ejecuta.
- g) Todos los lotes del producto deben haber sido analizados por la misma metodología analítica, la que debe estar validada.
- h) Los productos deben ser de interés comercial para el Laboratorio, es decir, tener una alta rotación y continuidad de fabricación en un futuro próximo.
- i) En los procesos que involucran productos estériles, la validación retrospectiva no reúne las características para validar el total del proceso, ya que deben validarse diferentes componentes, sin embargo, el proceso de fabricación puede ser validado remitiéndose a la reproducibilidad de las características fisicoquímicas del producto y a la valoración del principio activo (Feigenbaum, 1986).

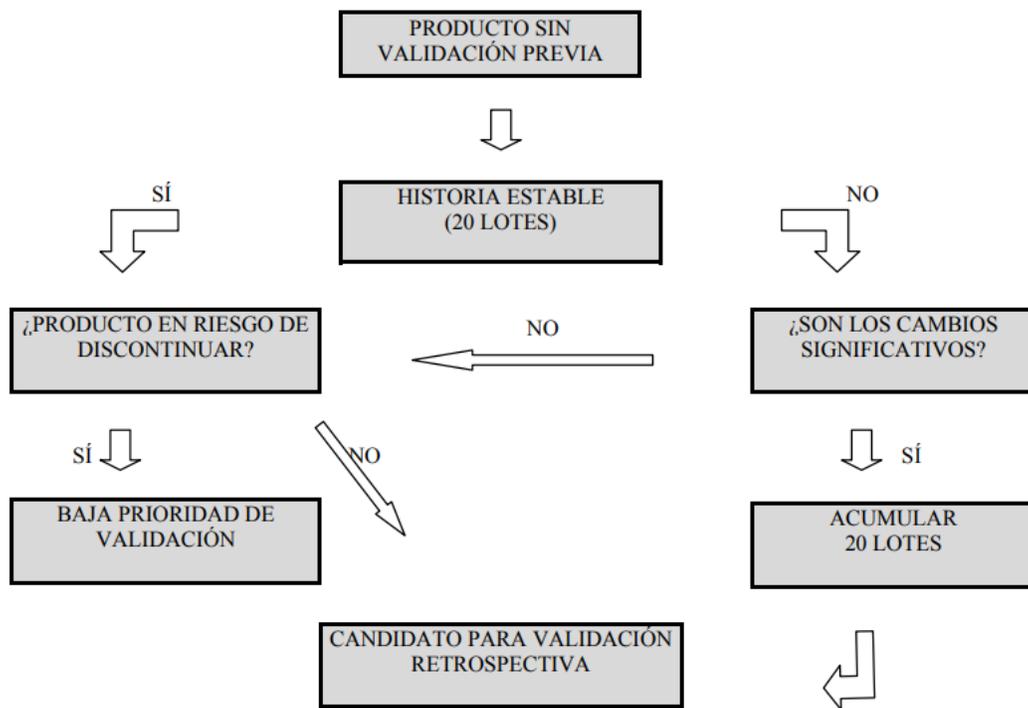


Figura No. 4. Resumen de Criterios para la selección de productos a validar retrospectivamente (López, 2000).

IV. JUSTIFICACIÓN

Se validará el proceso de filtración esterilizante con propósito del cumplimiento normativo para líquidos parenterales de bajo volumen, el cual regula que todos los procesos de esterilización deben ser validados:

iv. OMS-Serie de informes Técnicos 823, 3^{er} Informe

- a. numeral 17.54: "Todos los procedimientos de esterilización deben ser validados".
- b. Numeral 17.55: "Antes de probar un método de esterilización, debe demostrarse que es adecuado para el producto en cuestión y que es eficaz para alcanzar los niveles de esterilización deseados en todas las partes de cada tipo de carga a ser procesada".

- Código de Regulaciones Federales 211.65

El equipo debe construirse de manera tal que las superficies de contacto con los componentes materiales en proceso, o los fármacos no sean reactivas, aditivas, adsorptivas de modo que puedan alterar la seguridad, identidad, fuerza, calidad o pureza de fármacos más allá de los requisitos oficiales u otros establecidos.

v. PDA-Reporte técnico No. 26

Recomienda que el productor farmacéutico lleve a cabo la validación con producto que incluye:

- a) Establecer metodología de prueba de integridad y demostrar la integridad del filtro esterilizante.
- b) Llevar a cabo un estudio de retención microbiológica.
- c) Llevar una correlación entre la retención microbiológica y el método de test de integridad.
- d) Llevar a cabo pruebas de extractables

V. OBJETIVOS

a. Generales:

Desarrollar el plan maestro de validación del proceso de filtración esterilizante para el producto seleccionado como peor caso de una línea de producción de medicamentos parenterales de bajo volumen.

b. Específicos:

1. Realizar la calificación del desempeño de la membrana filtrante mediante pruebas de eficiencia microbiológica (método destructivo) y pruebas de integridad (método no destructivo)
2. Evidenciar que el proceso de filtración esterilizante no tiene impacto sobre la calidad fisicoquímica del producto farmacéutico.
3. Establecer los criterios de cumplimiento para el mantenimiento del estado validado del proceso de filtración esterilizante.

VI. HIPÓTESIS

El presente estudio no lleva hipótesis de investigación.

VII. MATERIALES Y MÉTODOS

a. Universo de Trabajo:

Soluciones parenterales líquidas de bajo volumen conteniendo Dipirona Magnésica 2g/5mL, en cuyo proceso de fabricación incluye la filtración esterilizante como método de esterilización, utilizando membrana de filtración con un tamaño de poro de 0.2 μ m utilizada en la industria farmacéutica.

b. Muestra:

- i. Selección de un producto que cumple con las características de peor caso.
- ii. Muestra para análisis retrospectivo: 20 lotes productivos del producto definido como peor caso de un tamaño de lote de 150L.
- iii. Muestra para análisis Microbiológico: 3 lotes experimentales de producto definido como peor caso.

c. Materiales:

1. Equipos:

- a) Equipo de Computo
- b) Impresora con tinta
- c) Equipo para pruebas de integridad Pall-tronic
- d) Cabina de Bioseguridad
- e) Tanque pulmón de filtración
- f) Autoclave
- g) Incubadora
- h) Turbidímetro
- i) Potenciómetro

2. Reactivos:

- a) Nitrógeno grado industrial
- b) CEPA: microorganismo de prueba: *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228
- c) Dipirona Magnésica
- d) Tiosulfato de Sodio
- e) Alcohol etílico al 70% v/v
- f) Agua para inyección USP

3. Instrumentos:

- a) Filtros grado esterilizante tipo cápsula de 5 pulgadas de profundidad suporlife®
- b) Mangueras de silicona
- c) Conexiones triclám

- d) Vial de vidrio estéril y apirógeno
- e) Tapón estéril
- f) Agrafe estéril
- g) Selladora manual

4. Cristalería y equipo de laboratorio:

- a) Tubos de ensayo
- b) Balón aforado
- c) Pipeta
- d) Bureta
- e) Espátula de acero inoxidable 316L
- f) Recipiente de acero inoxidable 316L
- g) Pinzas estériles
- h) Soporte universal
- i) Pinzas de soporte universal
- j) Guantes de nitrilo estériles
- k) Papel crepado

I. Métodos:

La validación se llevó a cabo bajo la comprobación de los siguientes enunciados:

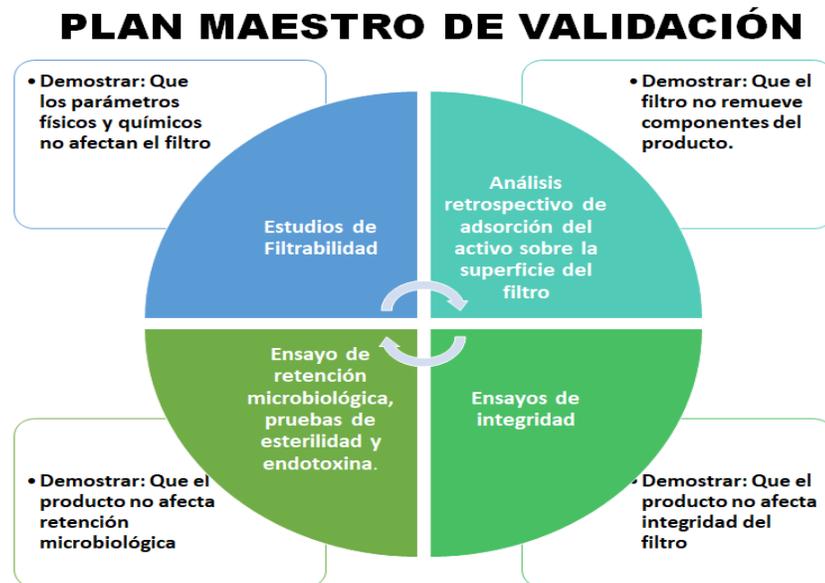


Figura No. 5. Requerimientos Plan Maestro de Validación. EUDRALEX, (2003).

1. Los parámetros físicos y químicos del proceso y producto no afectan el filtro:

Los requerimientos regulatorios recomiendan que: "Antes de la adopción de un proceso de esterilización, su seguridad para el producto y su eficacia deben ser

demostrados por medios físicos e indicadores biológicos”. EUDRALEX, (2003). El presente trabajo de investigación parte de los resultados de calificación de la membrana filtrante reportados en la tesis “Estudio de Filtrabilidad a Presión Constante para la Selección de Filtros en un Área de Producción de Fórmulas Farmacéuticas Estériles de Bajo Volumen” , desarrollada como antecedente al presente protocolo de tesis en el laboratorio fabricante, en dicho estudio se definió a través de la prueba de filtrabilidad los medios filtrantes para una solución acuosa; concluyendo que: los parámetros de pH, presión constante, densidad del producto a filtrar y el área efectiva filtrante son determinantes para la adecuada selección de un sistema de filtración, permitiendo establecer la profundidad necesaria del filtro que garantice mayor caudal de filtración y menor tiempo de contacto del producto con la membrana filtrante. Los niveles bajos de saturación de la membrana seleccionada facilitan presión constante y menores tiempos de filtración, lo que elimina el riesgo de desprendimiento de extractables del material de construcción de la membrana, evitando lixiviables en el efluente. La calificación de la membrana se realizó sobre tres líneas de proceso denominadas como peor caso: 1. Solución sobresaturada; 2. Solución verdadera; 3. Solución semi-acuosa. Los resultados del estudio se tomaron y se extrapolaron al universo de trabajo. En la investigación inicial realizada en las instalaciones de producción, se evidenció que se desarrollaron los procedimientos estándar de operación para la selección del filtro por producto, y se establecieron las especificaciones del medio filtrante que permiten optimizar su utilización en el área de producción estéril de bajo volumen. En función que los resultados de selección de membrana fueron extrapolados al universo de productos, incluyendo el producto seleccionado como peor caso para la presente investigación, se realizó la revisión de la reproducibilidad de los resultados de los siguientes parámetros: pH, presión constante de filtración, densidad; en 20 lotes de producto manufacturado. Con dicha revisión se buscó describir que la naturaleza del producto no afecta la aptitud de la membrana, siendo esta apta para el proceso, manteniendo estable las condiciones de operación según el estudio preliminar de compatibilidad.

2. El filtro no afecta el producto:

La recomendación regulatoria indica: “Los equipos en producción no deben presentar riesgos sobre los productos. Las partes de los equipos que están en contacto con el producto no deben reaccionar, adicionar o adsorber componentes que puedan afectar la calidad del producto y generar riesgo EUDRALEX, (2003). Esto se verificó a través de un análisis estadístico retrospectivo de la concentración del activo en 20 lotes manufacturados del producto definido como peor caso

utilizando como metodología de esterilización la filtración con filtro 0.22 micras. De esta manera se buscó identificar si existe adsorción del activo en la superficie del filtro durante el proceso de filtración y si la misma es significativa.

3. El producto no afecta la retención Microbiológica:

La recomendación regulatoria indica: "Un filtro esterilizante debe ser validado para reproducir la retención microbiológica del proceso de producción generando un filtrado estéril" (FDA, 2011). También indica que: "Se debe proveer información y datos concernientes a la validación de la retención microbiológica y la compatibilidad del filtro con un producto en específico" (FDA, 2011). Esto se comprobó a través de la realización de ensayo de retención microbiológica por triplicado (tres lotes experimentales), para lo cual se describe a continuación la metodología utilizada:

- a) La cepa de elección se sometió a ensayo de viabilidad para verificar que una vez inoculada en el producto, el producto no inhibe el crecimiento de la cepa de prueba pudiendo generar un sesgo en la investigación.
- b) Una vez verificada la viabilidad de la cepa, se fabricó un volumen de producto en condiciones de laboratorio, el cual se inoculó con la cepa de prueba.
- c) El producto inoculado se sometió a proceso de filtración esterilizante en condiciones controladas, se envasó y selló.
- d) Se envió a análisis de esterilidad y endotoxina para determinar ausencia o presencia de la cepa inoculada en el producto envasado.

4. Pruebas de Integridad:

Respecto a las pruebas de integridad, la regulación dice: "La integridad del filtro esterilizante debe ser verificada antes de sur y debe ser verificada inmediatamente después su uso, utilizando un método apropiado como punto de burbuja, flujo difusivo o mantenimiento de presión" EUDRALEX, (2003). En base a lo anterior, se llevó a cabo prueba de punto de burbuja o en su defecto flujo difusivo para garantizar la integridad del filtro antes, durante y después de su uso,

F. Modelo Estadístico:

1. El análisis para demostrar que los parámetros físicos y químicos del proceso y producto no afectan el filtro, el reto microbiológico y los ensayos de integridad se efectuaron mediante estadística descriptiva, los datos se presentan mediante tablas y gráficos o cartas de control.
2. Para determinar si el filtro afecta a el producto de manera adversa, adsorbiendo el producto sobre la superficie del filtro, se realizó un análisis retrospectivo de la variable

crítica de concentración del principio activo en el producto terminado, se entiende por variable crítica aquella que es fundamental para las características finales del producto, la medición del principio activo (variable crítica) ha sido de elección en el presente estudio por la importancia que reviste en la calidad y posterior efecto farmacológico que producirá en el medicamento (Feigenbaum, 1986). Esto se determinó utilizando como estadística matemática el siguiente análisis numérico:

- a) Media (μ): Se define como un valor representativo de una serie de mediciones de un parámetro determinado. Estas mediciones deben ser tomadas bajo las mismas condiciones de modo tal que el valor resultante represente en forma objetiva dicho parámetro. Este concepto señala la tendencia de centralización de los datos con respecto al valor nominal de la especificación. Numéricamente se obtiene el cociente entre la sumatoria de todos los valores de la serie, y el número total de mediciones, es decir:

$$\mu = \frac{\sum x}{n} \quad \text{donde } x = \text{valor de cada medición de la serie, y} \\ n = \text{número de mediciones.}$$

Existe una diferencia conceptual entre la media de la muestra (\bar{X}) y la media de la población (μ), basada principalmente en la cantidad de mediciones realizadas, las cuales en la práctica tienden a despreciarse. En este estudio se analizará la media del parámetro de concentración del activo en el producto final, calculada a partir de un número que permite trabajar con el concepto de media de la poblacional ($n=20$). Este valor será de utilidad al momento de analizar el CEP (Montgomery, 1991).

- b) Desviación Estándar (σ): Es una medida de la dispersión de una serie de mediciones de un determinado parámetro, esto significa que nos da la idea de la variación entre cada valor y la media. Tanto este concepto como el concepto de media, se visualizan mejor cuando se presentan los datos en forma de una Distribución de Frecuencia, es decir, ordenados por clase según su magnitud. La representación gráfica de esta distribución de frecuencia se le llama Histograma. Numéricamente, la desviación estándar se obtiene de la raíz cuadrada de la sumatoria de los cuadrados de la diferencia entre cada valor de la serie y su media, dividido por el número total de mediciones menos 1, es decir:

$$\sigma = \sqrt{\frac{(\mu - x)^2}{n-1}}$$

También existe una diferencia conceptual entre la Desviación Estándar de la Muestra (s) y Desviación Estándar de la Población (σ). En el presente estudio se utilizará la desviación estándar para determinar la variabilidad del proceso, además de establecer los límites de control que evaluarán el proceso (Montgomery, 1991).

c) Estudio de Capacidad: Se realizará para determinar la reproducibilidad del proceso en forma consistente. Se basa en el cálculo de distintos índices los cuales ocupan la información entregada por los valores de media y desviación estándar.

i. Índice de Capacidad del Proceso (Cp): Establece una relación entre los límites de especificación (LES y LEI) y la variabilidad del proceso, sin embargo, no señala si el proceso cumple con esas especificaciones, ya que no se refiere al valor medio de éste. Se puede establecer el índice de Capacidad del Proceso Superior (Cps) e inferior (Cpi), para casos en que se cuenta sólo con un límite de especificación, para estos casos, los criterios de aceptación son distintos a los procesos que cuentan con 2 especificaciones.

$$Cp = (LES - LEI) / 6\sigma$$

$$Cps = (LES - \mu) / 3\sigma$$

$$Cpi = (\mu - LEI) / 3\sigma$$

LES = Límite de Especificación Superior

LEI = Límite de Especificación Inferior

ii. Índice de Rendimiento o Capacidad Real (Cpk): Es una modificación del Cp, con el fin de evaluar la ubicación de la media con respecto a los límites de especificación.

$$Cpk = MC / 3\sigma$$

donde MC es el valor más pequeño entre (LES- μ) y (μ -LEI)

Si la media del proceso corresponde al valor nominal de la especificación, Cpk es igual a Cp, es decir, el proceso se encuentra completamente centrado, de lo contrario, siempre será menor. El problema que surge a partir de este índice es la

cuantificación de la centralización, ya que es un índice estricto y sólo indica si la media del proceso está centrada o no. Se debe recalcar que un proceso no centrado, no necesariamente está fuera de especificaciones.

- iii. Índice de Taguchi (Cpm): este índice cuantifica la magnitud de la variabilidad del proceso con respecto a la media, para así tratar de reducirlo alrededor de su valor nominal (Gutiérrez,1997).

$$C_{pm} = (LES - LEI) / 6 \tau$$

donde $\tau^2 = \sigma^2 + (\mu - \text{valor nominal})^2$. En este caso, τ corresponde a un factor de corrección que considera tanto la variabilidad del proceso, como también su centralización.

En términos generales, se puede mencionar los valores adecuados de estos índices en la siguiente tabla:

VALOR ÍNDICE	CONDICIÓN
$C_p > 1,33$	Adecuado
$1 < C_p < 1,33$	Adecuado, pero requiere de un control estricto
$0,67 < C_p < 1$	No adecuado, requiere un análisis del proceso
$C_p < 0,67$	No adecuado, requiere modificaciones
$C_{pk} = C_p$	El proceso está centrado
$C_{pk} < C_p$	El proceso no está centrado
$C_{pm} > 1,33$	La media del proceso está dentro de la quinta parte media de las especificaciones
$C_{pm} > 1,0$	La media del proceso está dentro de la tercera parte media de las especificaciones

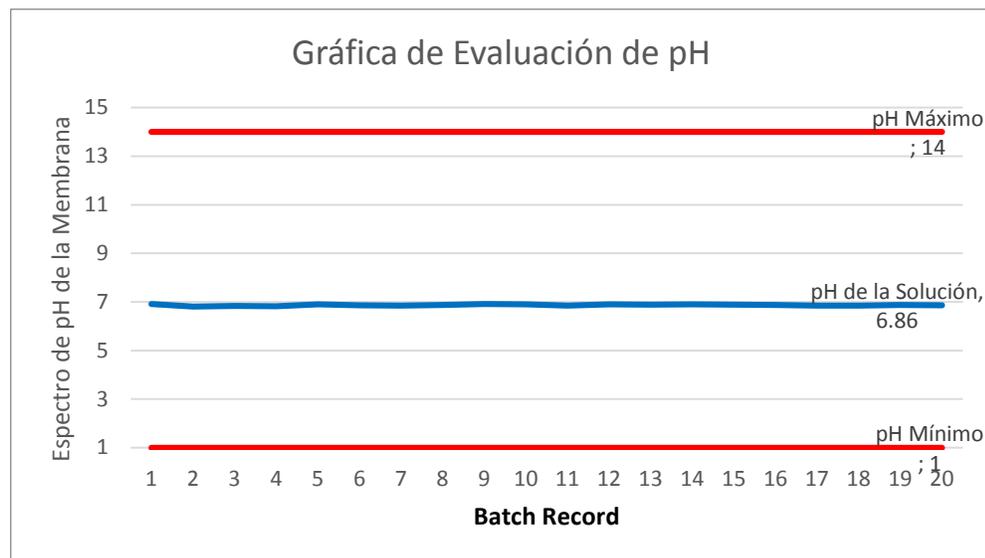
Figura No. 6. Resumen de índices de Capacidad del Proceso. (Gutiérrez,1997).

VIII. RESULTADOS

a. Evaluación de la Compatibilidad de los parámetros físicos y químicos

Gráfica No. 1: Evaluación del Parámetro de pH Versus Especificación Membrana Filtrante

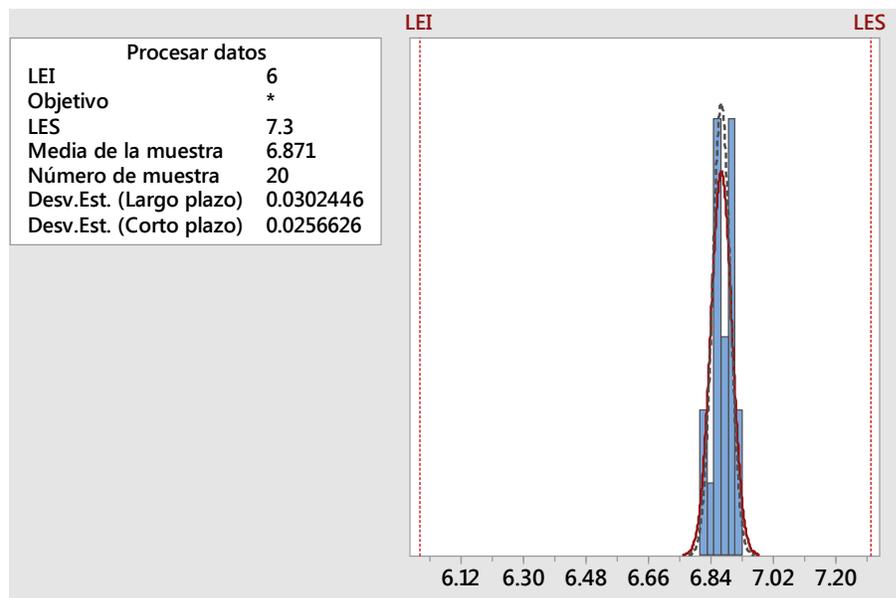
En la gráfica No. 1 se describe el comportamiento del pH, medido en 20 lotes productivos del producto denominado como peor caso Dipirona 5g/3mL. El pH medido durante el proceso muestra que dicho parámetro se encuentra dentro del espectro de pH recomendado por el fabricante de la membrana filtrante polietersulfona. En el Anexo No. 1 "Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, en el registro de validación 02-00 Estandarización de parámetros de operación y tiempos de filtración" se adjunta evidencia de registros tomados.



Fuente: datos experimentales

Gráfica No. 2. Evaluación del parámetro de pH versus especificaciones de proceso

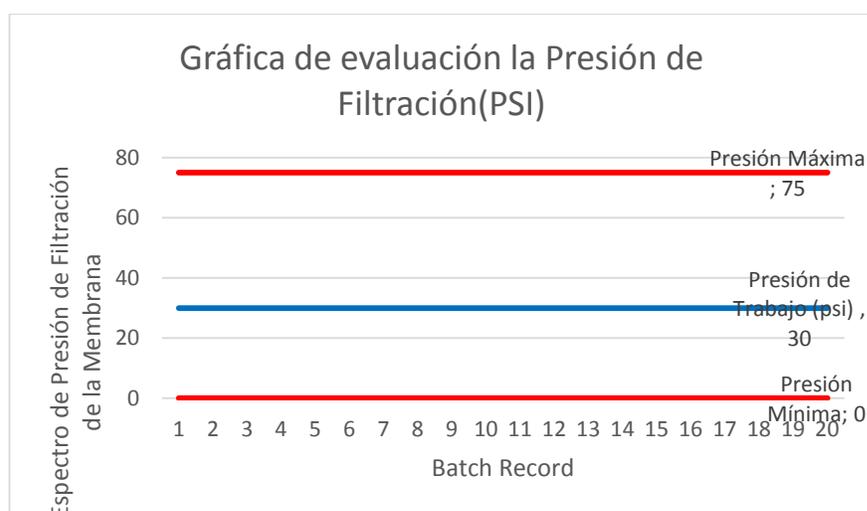
En la gráfica No. 2 se observa que al evaluar el comportamiento del pH en 20 muestras se tiene poca dispersión con una media de 6.871 y una desviación estándar de 0.030. Así mismo se observa una campana de Gauss esbelta.



Fuente: datos experimentales

Gráfica No. 3: Evaluación del Parámetro de Presión de Filtración

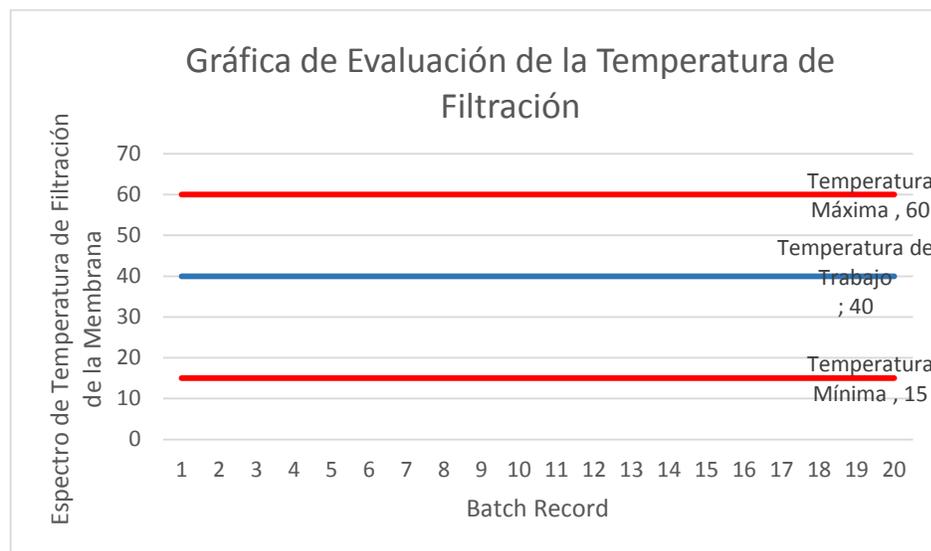
En la gráfica No. 3 se describe el comportamiento de la variable Presión de filtración, medido a 20 lotes productivos del producto denominado como peor caso Dipirona 5g/3mL, evidenciando que se mantuvo una presión constante y que la misma no supera los rangos de presión recomendados por el fabricante de la membrana filtrante polietersulfona. En el Anexo No. 1 "Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, registro de validación 02-00, estandarización de parámetros de operación y tiempos de filtración" se adjunta evidencia de registros tomados.



Fuente. Datos experimentales

Gráfica No. 4: Evaluación del Parámetro de Temperatura de Filtración:

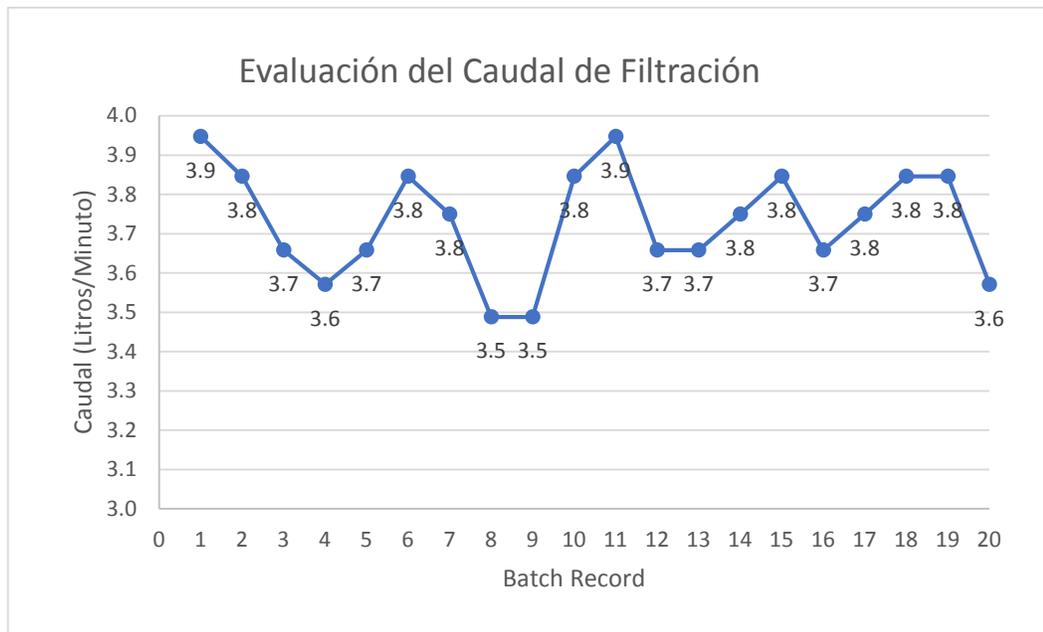
En la gráfica No. 4 se muestra el comportamiento de la temperatura de filtración, medido a 20 lotes productivos del producto denominado como peor caso Dipirona 5g/3mL, evidenciando que se cumple con parámetro de temperatura requerido para mejorar el flujo de la solución, la cual se caracteriza por ser una solución sobresaturada, así mismo se denota que no supera el límite de temperatura máxima recomendada por el fabricante de la membrana polietersulfona. En el Anexo No. 1 “Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, registro de validación 02-00, estandarización de parámetros de operación y tiempos de filtración” se adjunta evidencia de registros tomados.



Fuente: Datos experimentales

Gráfica No. 5: Evaluación del Caudal de Filtración

En la Gráfica No. 5 se observa el comportamiento del caudal de filtración de 20 lotes productivos del producto denominado como peor caso, Dipirona 3g/5mL, El caudal relaciona el tiempo de filtración y el volumen filtrado, se observa un caudal mínimo de 3.5 Litros/minuto y un caudal máximo de 3.9 Litros/minuto. En el Anexo No. 1 “Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, registro de validación 02-00, estandarización de parámetros de operación y tiempos de filtración” se adjunta evidencia de registros tomados.

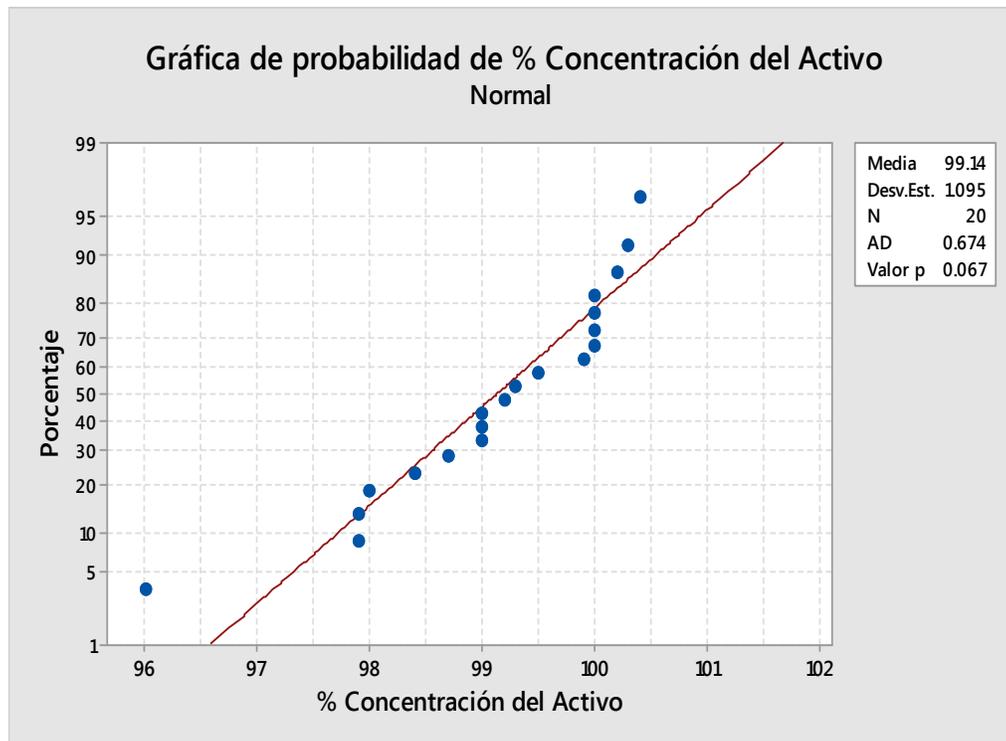


Fuente: Datos experimentales.

b. Análisis de la Adsorción del Activo:

Gráfica No. 6: Prueba de Normalidad de los Datos

En la Gráfica No.6 se puede observar que los datos generan una distribución Normal, ya que el valor P (0.067) es mayor que el nivel de significancia 0.05 lo cual quiere decir que los datos generan una distribución normal, dicho resultado es la base del estudio de capacidad del proceso para una distribución normal. En el Anexo No. 1 "Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, registro de validación 03-00, Cuantificación del principio activo en el producto terminado" se adjunta evidencia de registros tomados.

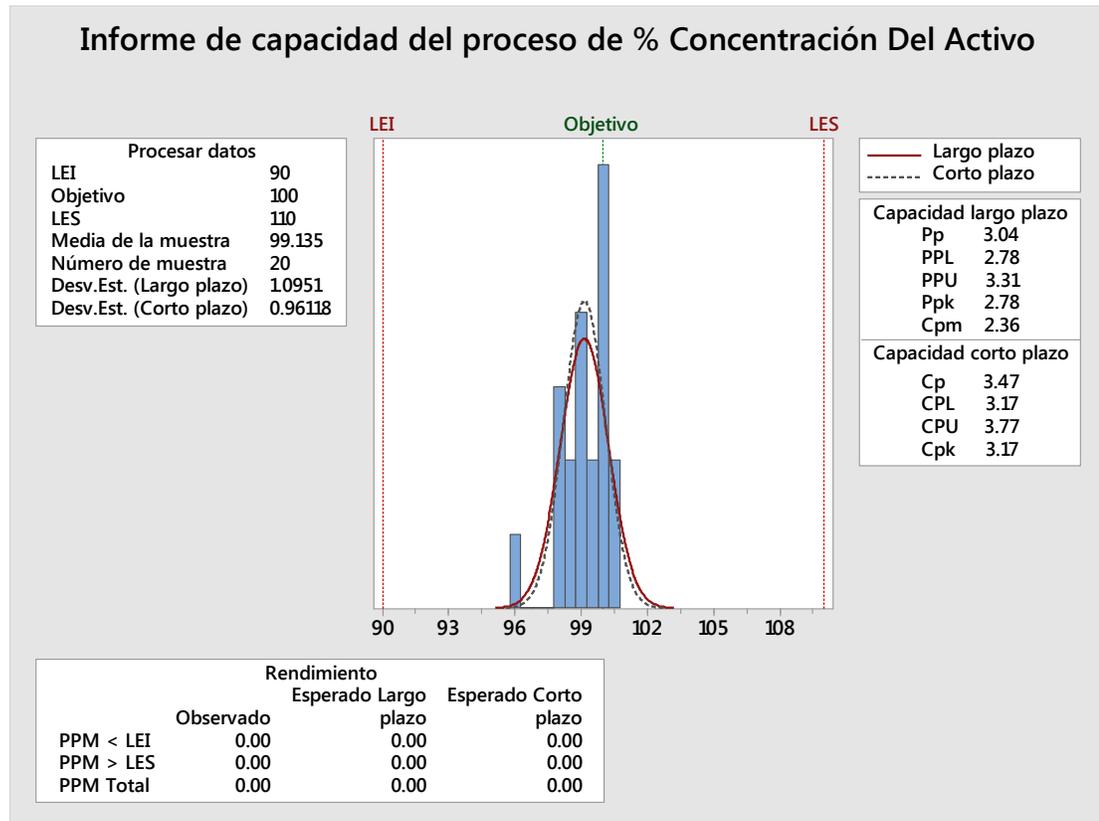


Fuente: Datos experimentales.

Gráfica a No. 7. Análisis de Capacidad del Proceso

En la gráfica No. 7 se puede observar la evaluación de la variable crítica “concentración de principio activo en el producto terminado” para una muestra de 20 lotes, se presentan límites de especificación entre 90-110% con un valor objetivo del 100%, para los datos se tiene una media de 99.135 con una desviación estándar de 1.0951 a largo plazo y 0.96118 a corto plazo. También se observa la capacidad a largo plazo con un valor de Pp de 3.04, Ppk de 2.78 y Cpm de 2.36, así como la capacidad a corto plazo con un Cp de 3.47 y un Cpk de 3.17.

Los valores indican que el proceso es capaz, ya que el Cp y Pp son mayor a 1.33, lo cual es indicativo que el proceso de filtración esterilizante es reproducible lote a lote. También se muestran las partes por millón de oportunidades o probabilidades de encontrar un defecto por fuera de las especificaciones tanto superior como inferior, indicando que no se esperan defectos a largo ni a corto plazo, estos defectos están asociados a posibles efectos de adsorción del principio activo sobre la membrana filtrante. La campana de gauss es esbelta e indica poca dispersión de los datos. En el Anexo No. 1 “Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, registro de validación 03-00, Cuantificación del principio activo en el producto terminado” se adjunta evidencia de registros tomados.



Fuente: Datos experimentales.

c. Análisis de Retención Microbiológica y Pruebas de Integridad

Tabla No. 1. Prueba de Viabilidad

En la tabla No. 1 se presenta resumen de inoculación de cepa endémica de planta del organismo *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 en el producto de estudio para la evaluación de la viabilidad del mismo en el producto, evidenciando que no se presenta más de una reducción logarítmica en su recuento tras 24 horas de exposición, superando el tiempo de filtración, lo cual indica que la cepa es viable para la prueba.

Tipo de Inoculación:	Directa
Cepa	<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228
Medio de Inoculación:	Formulación Dipirona 5g/2mL
Tiempo de exposición del organismo:	24 horas
Tiempo de filtración peor caso:	6 horas
Reducción logarítmica del recuento:	No se observa más de una reducción
Conclusión:	La formulación se considera no bactericida

Fuente: Datos experimentales.

Tabla No.2. Evaluación de Lotes Piloto para Retención Microbiológica

En la tabla No. 2 se observa que posterior a la filtración del producto inoculado con el microorganismo de prueba a presión constante se tiene un efluente estéril de conformidad con la prueba de integridad del flujo difusivo y especificación de endotoxinas. En el Anexo No. 1 "Protocolo de Validación del Proceso de Filtración Esterilizante, registro de validación 04-00, Retención Microbiológica" se adjunta evidencia de registros tomados.

Característica a Evaluar	Ensayo 1	Ensayo 2	Ensayo 3
Concentración inoculada del organismo de prueba	10 ⁷ UFC/cm ² del área de superficie del filtro	10 ⁷ UFC/cm ² del área de superficie del filtro	10 ⁷ UFC/cm ² del área de superficie del filtro
Caudal de filtración	3.6Litros/minuto	3.7Litros/minuto	3.9Litros/minuto
Presión de filtración	30 psi	30 psi	30 psi
Esterilidad del efluente	Estéril	Estéril	Estéril
flujo difusivo (especificación)	4.40 mililitros/minuto	4.40 mililitros/minuto	4.40 mililitros/minuto
Punto de burbuja:	No cumple	No cumple	No cumple
Resultado Prueba de Integridad	3.30 mililitros/minuto	2.48 mililitros/minuto	3.47 mililitros/minuto
Endotoxina	<0.25 UE/mg	<0.25 UE/mg	<0.25 UE/mg

Fuente: Datos experimentales

IX. DISCUSIÓN

La validación se define como el establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados. Una vez que el sistema o proceso se ha validado, cabe prever que permanezca bajo control, si y solo sí, los criterios de operación bajo los cuales se validó el proceso permanezcan sin desviaciones. Si se producen modificaciones o surgen problemas, o si un equipo se sustituye o se cambia de ubicación, habrá que efectuar la revalidación (OMS, 1998).

La presente investigación parte de la evaluación del cumplimiento de la validación de los sistemas críticos como base de la potencialidad de que el presente proceso de operación, sea candidato viable a validar. Ya que, de no cumplir con alguno de los criterios, el presente proceso no puede ser validado. Se consideran sistemas críticos aquellos que tienen impacto directo en los procesos y productos (Norma oficial Mexicana NOM-59), como lo son, sistema de aire acondicionado (HVAC), que asegura el procesamiento del aire ambiental hasta llevarlo a calidad farmacéutica con las condiciones requeridas en las áreas de fabricación controlando: concentración de partículas, temperatura, humedad y presión diferencial; el sistema de agua para uso farmacéutico, este sistema genera agua de calidad farmacéutica a partir de agua potable, el sistema se compone de 2 elementos principales, el sistema de generación donde ocurre todo el tratamiento del agua, eliminación de CO₂ y sílice, partículas sólidas suspendidas, remoción de la dureza y cloro, remoción de iones y microorganismos y el sistema de distribución que alimenta los puntos de uso a través de un loop que esta siempre en movimiento y de material adecuado; sistema de aire comprimido, es un sistema que genera aire comprimido que cumple con la norma ISO-8573, para partículas, agua y aceite. Ver tabla No. 4 del protocolo de validación "Requisitos de Sistemas, Áreas, Equipos, Instrumentos y Materiales Para la Validación".

El desarrollo de la presente validación del proceso de filtración esterilizante, obedece a que, como metodología de esterilización, las normativas requieren tres elementos para asegurar la calidad de un filtro esterilizante. El primer elemento, es el uso de filtros validados por el proveedor; el segundo elemento, son los ensayos de integridad con resultados consistentes generados en la validación, y el tercer elemento, es la validación del filtro con ensayos que simulan el proceso real de manufactura (Rodríguez, 2010).

En el desarrollo del primer criterio de aceptación de la presente validación definido en la tabla No. 1 "Evaluación de la compatibilidad de la membrana" inciso 1.1 del protocolo de validación basado en la tesis de pregrado "Estudio de Filtrabilidad a presión constante para la Selección

de filtros en un área de producción de fórmulas farmacéuticas estériles de bajo volumen” donde de acuerdo a los resultados obtenidos en dicha tesis quedo seleccionado el filtro grado esterilizante 0.2 micras absolutas, membrana de polietersulfona para soluciones 100% acuosas, la cual fue seleccionada para la filtración del producto de estudio, dicha membrana se encuentra certificada por el proveedor y cuenta con un área efectiva de filtración de 0.15m^2 , una capacidad total de retención de 1.5×10^{10} UFC, puede ser utilizada con soluciones que presenten un rango de pH entre 1-14, un rango de temperatura de entre 15 y 60 grados centígrados de acuerdo a la presión de filtración que puede ir de 0 a 75 psi. En la tabla No. 2 “Especificaciones de la membrana filtrante” del protocolo de validación se describen las características de la membrana.

Así mismo, se llevó a cabo la selección del producto denominado como peor caso, una solución sobresaturada de Dipirona Magnésica con una concentración de 2g/5mL. En la Tabla No. 3 “Especificaciones de producto denominado como peor caso” del protocolo de validación se describen las características de la membrana.

Para la evaluación de la compatibilidad de la membrana, partiendo de la selección del filtro con membrana polietersulfona y del producto a filtrar denominado como peor caso, solución sobresaturada de Dipirona 2g/5mL, se analizó el comportamiento de la variable de pH en 20 lotes productivos, en donde se observó que el pH del producto se encuentra dentro de los límites especificados para la membrana filtrante, ver gráfica No. 1 de resultados “Evaluación del Parámetro de pH versus Especificaciones de membrana”, así mismo se analizó el comportamiento del pH de acuerdo a las especificaciones de proceso de manufactura y se observa que el proceso se encuentra controlado con una media de medición de pH de 6.87 y una desviación estándar de 0.030, mostrando un comportamiento con poca dispersión y una campana gaussiana esbelta. Ver gráfica No. 2 de resultados “Evaluación de parámetro de pH versus especificaciones de proceso.

Así mismo se realizó el análisis de la variable de Presión de Filtración, encontrándose un comportamiento estable en los 20 lotes analizados, con una medición de 30 PSI, dicha presión constante no supera los rangos de presión recomendados por el fabricante de la membrana como se puede observar en la Gráfica No. 3 de resultados “Evaluación del parámetro de presión de filtración.

En cuanto al análisis de la variable temperatura, se observa en la gráfica No. 4 de resultados “Evaluación del parámetro de temperatura de filtración” que durante la fabricación de los 20 lotes de muestra se mantuvo una temperatura constante de trabajo de 40 grados centígrados, temperatura a la cual se reportaron tiempos de filtración eficientes con caudales de entre 3.5 y

3.9 litros por minuto, con lo que se satisface el tiempo productivo necesario para la filtración favorecida por la temperatura aplicada al producto denominado como peor caso por su característica de sobresaturación y por ende muestra mayor resistencia al paso por la membrana filtrante, la capacidad de una sustancia para disolverse en otra se llama solubilidad. Se considera que una disolución está saturada cuando no admite más soluto, por lo cual el sobrante se deposita en el fondo del recipiente, cuando se calienta una disolución saturada, esta disuelve más soluto que a temperatura ambiente; por lo mismo, se obtiene una disolución sobresaturada. Esto ocurre porque el aumento de temperatura hace que el espacio entre las partículas del líquido sea mayor y disuelva una cantidad más grande de sólido (Cabrera, 2007). Es por ello que la temperatura es una variable crítica para la velocidad de filtración de dicho proceso. Ver gráfica No. 5 de resultados “Evaluación del caudal de filtración”.

Existen muchas posibles interacciones entre el fluido en un proceso y un filtro esterilizante. Las consecuencias de estas interacciones pueden manifestarse en una variedad de cambios medibles. Si el fluido y la membrana son drásticamente incompatibles, puede darse degradación física de la membrana hasta grandes defectos de la membrana que reducirían la eficiencia de la filtración y causarían contaminación de manera que el filtro derrama partículas aguas abajo (PDA, 1998). Las variables estudiadas muestran que a condiciones estándar de temperatura 40 grados centígrados, presión constante de 30 PSI y pH medio de 6.87 para un lote de 150L, el producto es compatible con la membrana minimizando el riesgo de generar contaminación aguas abajo (lixiviables), aumentando la eficiencia del proceso, al lograr un caudal de filtración eficiente con un promedio de 3.7 litros filtrados por minuto, es importante reconocer que a menor tiempo de filtración de un lote productivo, menor tiempo de contacto del producto con la membrana, disminuyendo el riesgo de aumento de bioburden sobre la superficie filtrante. Tiempos largos de filtración aumentan el riesgo de lixiviables aguas abajo del filtro al aumentar el bioburden sobre las membranas, colocando en riesgo la esterilidad de las soluciones.

Se desarrolla el segundo criterio “retención de activo sobre la membrana filtrante” inciso 2.1 del “protocolo de validación”, para evaluar si el filtro afecta al producto reteniendo sobre su superficie parte del principio activo, y por lo tanto disminuyendo la concentración del activo en el producto terminado. La recomendación regulatoria indica: “Los equipos en producción no deben presentar riesgos sobre los productos. Las partes de los equipos que están en contacto con el producto no deben reaccionar, adicionar o adsorber componentes que puedan afectar la calidad del producto y generar riesgo EUDRALEX, (2003). Dicha adsorción se verificó tras el análisis estadístico de la concentración del activo en 20 lotes manufacturados del producto definido como peor caso, utilizando como metodología de esterilización la

filtración con la membrana filtrante de elección “polietersulfona” 0.22 micras, manteniendo las condiciones de operación previamente estandarizadas. Ver gráfica No. 7 de resultados “Análisis de capacidad del Proceso”. La medición de la concentración del activo en el producto final comprende una variable crítica para la liberación de un producto farmacéutico al mercado, ya que el cumplimiento con especificaciones de dicha variable depende el cumplimiento de la dosificación necesaria para el efecto farmacológico en el paciente, así mismo el resultado de dicha variable es crítica para la garantía de calidad durante el proceso de manufactura, es por ello que se selecciona para medir la capacidad del proceso y demostrar si existe pérdida significativa en el % del activo que afecte directamente en la dosis farmacológica. Para estimar la capacidad de un proceso, es necesario que se cumplan dos condiciones, la primera es que el proceso se encuentre bajo control estadístico y la segunda es que cumpla con una distribución normal (Kume, 2002). Para demostrar lo anterior, se tomaron los resultados de cuantificación de la muestra y se analizó su distribución. Ver gráfica de resultados No. 6 “Prueba de Normalidad de los Datos”, donde se puede observar que los datos generan una distribución Normal, ya que el valor P 0.067 es mayor que el nivel de significancia 0.05 lo cual quiere decir que los datos generan una distribución normal, dicho resultado es la base del estudio de capacidad del proceso que indicará si el proceso se encuentra bajo control estadístico.

Por otro lado, se observa en la gráfica 7 una media de 99.135 y una desviación estándar de 1.0951, para la variable de estudio. En cuanto a la variabilidad de un proceso se dice que los procesos productivos son incapaces de producir dos unidades de producto exactamente iguales. Esto se debe a un sin número de causas, que provocan variación, y que por lo tanto es necesario identificarlas, medirlas y minimizarlas (Kume, 2002). La variabilidad encontrada en el análisis evidencia poca dispersión y buena tendencia con una campana de gauss esbelta.

En la table No. 6 del protocolo de validación “Tabla de Índices de capacidad de Proceso” se observa que el proceso de estudio genera un Cp de 3.47 al ser mayor que el índice 1.33 indica que el proceso se encuentra bajo control estadístico, que un valor Cpk menor a Cp es característico de un proceso que no se encuentra centrado, en el caso del estudio de análisis el Cpk presentado es de 3.17 y el Cp 3.47 por lo que es menor, pudiendo verificarse en la gráfica No. 7 que el proceso se encuentra orientado hacia el cuadrante de la especificación superior, orientado hacia el objetivo del 100%. Por último, el índice de Cpm mayor a 1,33 indica que la media del proceso se encuentra dentro de la quinta parte media de las especificaciones (Kume, 2002), para el estudio el Cpm presentado fue de 2.36.

Finalmente, el estudio de capacidad muestra también las partes por millón de oportunidades o probabilidades de encontrar un defecto por fuera de las especificaciones tanto superior como inferior, indicando que se esperan cero defectos a largo y a corto plazo, esto en relación a la posible afectación de la membrana filtrante sobre el contenido del principio activo en la solución sujeta al estudio.

De acuerdo con el tercer elemento crítico de la validación, la validación del filtro con ensayos que simulan el proceso real de manufactura (Rodríguez, 2010). Y en atención a la recomendación regulatoria que indica: “Un filtro esterilizante debe ser validado para reproducir la retención microbiológica del proceso de producción generando un filtrado estéril” (FDA, 2011). Se llevó a cabo un ensayo de retención microbiológica por triplicado (tres lotes experimentales) según se indica en el inciso 3.1 Criterios de validación “Eficiencia del Filtro” en el protocolo de validación. Ver anexo 2. Diagrama de flujo de “Proceso de evaluación de Retención Microbiológica”.

Para el desarrollo de esta prueba, primeramente, se sometió a un test de viabilidad a un organismo endémico de planta que presento el menor tamaño dentro de la población caracterizada, el test se basó en la inoculación del producto denominado como peor caso con el organismo de prueba durante 24 horas, tiempo mayor al tiempo de filtración. Ver tabla No. 1 de resultados. Se muestra el microorganismo de elección *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 no evidencio más de una reducción logarítmica en su recuento transcurridas las 24 horas de exposición superando el tiempo de filtración con lo que se determina que el organismo es viable para la prueba y que el producto no inhibe el crecimiento de la cepa de prueba pudiendo generar un sesgo en la investigación.

Posteriormente se procedió a realizar la inoculación de 3 lotes piloto del producto denominado como peor caso con una concentración de la cepa de prueba de 1.5×10^{10} UFC, la cual corresponde a la máxima capacidad de retención según certificado para un filtro con área filtrante de 0.15 m^2 , dichos lotes piloto fueron sometidos a proceso de filtración esterilizante bajo condiciones controladas en una cabina de bioseguridad para evitar contaminación, el producto se envaso y sello bajo condiciones asépticas y se muestreó para determinar pruebas de esterilidad y endotoxinas y así determinar presencia o ausencia de la cepa de prueba. En la tabla de resultados No. 2 “Evaluación de Lotes Piloto para Retención Microbiológica” se observa que posterior a la filtración del producto inoculado con el microorganismo de prueba a presión constante y parámetros estandarizados se tiene un efluente estéril y que adicional cumple con la prueba de endotoxinas.

Finalmente, se procedió a verificar la integridad de los filtros posterior al uso con los lotes piloto inoculados con el objetivo de garantizar que el proceso de filtración no comprometió la integridad de la misma y que la eficiencia de la membrana inoculada a su máxima capacidad se mantuvo, esto en atención a recomendaciones normativas que indican que “La integridad del filtro esterilizante debe ser verificada antes de su uso y debe ser verificada inmediatamente después su uso, utilizando un método apropiado como punto de burbuja, flujo difusivo o mantenimiento de presión” EUDRALEX, (2003). Se procedió a realizar la prueba de integridad del punto de burbuja, la cual se basa en el hecho que el líquido se mantiene en los poros del filtro por la tensión superficial y las fuerzas capilares. La prueba se define por la presión mínima requerida para forzar el líquido fuera de los poros, en relación al diámetro del poro, sin embargo, el test de integridad no cumplió dentro de los parámetros, siendo el resultado de presión de nitrógeno a la que se observa el burbujeo continuo menor a la presión de nitrógeno reportada en la ficha técnica del fabricante del filtro, debido a lo anterior, se prosiguió según protocolo con la prueba del flujo difusivo, que se fundamenta en: presiones diferenciales de gas menores a las presiones de punto de burbuja, las moléculas de gas migran a través de los poros humectados con agua. La tasa de flujo de difusión de gas para un filtro es proporcional al diferencial de presión y al área total de la superficie del filtro. La prueba resulta satisfactoria al medir el caudal del gas que se difunde a través de la membrana a una presión diferencial específica (Millipore, 1999). En la tabla No. 2 “Evaluación de Lotes Piloto para Retención Microbiológica” se observa el cumplimiento de la integridad de los tres filtros mediante la prueba del flujo difusivo con caudales de gas menores a la especificación del proveedor de 4.40 mililitros/minutos.

En base a los puntos desarrollados de la validación del proceso de filtración esterilizante para el producto seleccionado como peor caso de una línea de producción de medicamentos parenterales de bajo volumen se considera que se cumple con pruebas de eficiencia microbiológica de esterilidad y endotoxina, se cumple con pruebas de integridad no destructivas de flujo difusivo y se evidencia que el proceso de filtración esterilizante no tiene impacto sobre la calidad fisicoquímica del producto farmacéutico, pues se desarrolló como un proceso bajo control estadístico mediante la evaluación de la variable de cuantificación de activo en el producto terminado; y que los criterios de cumplimiento para el mantenimiento del estado validado son pH medio de 6.87, presión de filtración constante de 30 PSI, temperatura de filtración de 40 grados centígrados, caudal de filtración de rango 3.7 y 3.9 litros por minuto, uso de membrana filtrante de polietersulfona de 0.15 m² de área filtrante para un tamaño de lote productivo de 150 L manipulado bajo condiciones asépticas y en cumplimiento con las buenas prácticas de manufactura vigentes.

X. CONCLUSIONES

- A. El desarrollo del plan maestro para la validación del proceso de filtración esterilizante del producto Dipirona 2g/5mL, estableció los criterios de cumplimiento para el estado validado a condiciones estándar de: temperatura de 40 grados centígrados, presión constante de 30 PSI y pH medio de 6.87 para un lote de 150L, el producto es compatible con la membrana de polietersulfona, minimizando el riesgo de generar contaminación aguas abajo (lixiviables), aumentando la eficiencia del proceso al lograr un caudal de filtración promedio de 3.7 litros por minuto.
- B. El estudio de la capacidad del proceso de fabricación de la solución Dipirona 2g/5mL, genera los siguientes índices de capacidad de Proceso: Cp de 3.47 mayor que el índice 1.33 que indica que el proceso se encuentra bajo control estadístico con resultados reproducibles lote a lote; Cpk 3.17 menor a Cp 3.47 que señala que el proceso no se encuentra centrado, sino orientado hacia la especificación superior. Y el Cpm 2.36 mayor a 1,33 que indica que la media del proceso se encuentra dentro de la quinta parte media de las especificaciones.
- C. El estudio de capacidad muestra que la fabricación de la solución Dipirona 2g/5mL se encuentra bajo control estadístico y que es probable encontrar cero defectos por millón a corto y a largo plazo, lo cual afirma que el filtro no afecta al producto adsorbiendo parte del principio activo sobre su superficie.
- D. El reto microbiológico certifica que la membrana Polietersulfona para el producto denominado como peor caso, bajo condiciones estandarizadas de filtración, cumple con especificación de esterilidad y endotoxina tras la inoculación y saturación del producto con la cepa viable endémica de planta *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, evidenciando que la membrana seleccionada cumple con la característica de ser grado esterilizante de tamaño de poro absoluto.
- E. El cumplimiento de la prueba de flujo difusivo con caudales de gas menores a la especificación del proveedor de 4.40 mililitros/minuto en las tres repeticiones, utilizado como prueba de integridad de membrana, posterior al proceso estandarizado de filtración, es el método no destructivo que permite evidenciar en forma oportuna que todos los criterios de validación de proceso se han mantenido sin desviaciones que generen un riesgo de no esterilidad, que para el caso de preparados farmacéuticos parenterales los

resultados de laboratorio para la prueba de esterilidad se obtienen en promedio 15 días después de manufacturado el producto.

- F. Se concluye que el proceso de filtración esterilizante no tiene impacto sobre la calidad fisicoquímica del producto Dipirona 2g/5mL.

XI. RECOMENDACIONES

- A. Generar una frecuencia de verificación del mantenimiento del estado validado, analizando la capacidad del proceso y el cumplimiento con las condiciones estandarizadas incluyendo el pH, la temperatura, presión, tiempos de filtración, membrana filtrante, tamaño de lote, caudales promedio y cuantificación del activo.
- B. Reforzar y concientizar a los dueños de procesos farmacéuticos que se encuentren validados sobre la importancia y las vías para registrar cualquier cambio, a través del control de cambios.
- C. Generar y validar metodología analítica para la caracterización y medición de extractables por cada tipo de membrana filtrante de uso en una planta de producción de productos parenterales de bajo volumen, que permita analizar las trazas potenciales en los efluentes estériles.
- D. El presente estudio de validación no abarca la reutilización de membranas filtrantes, por lo que se deberá realizar una nueva investigación en condiciones experimentales para determinar la capacidad de retención microbiológica sobre la misma membrana después de varios usos.

XII. REFERENCIAS

- Agalloco, J., (2003). *Validation of pharmaceutical Processes, Sterile Products*. Editorial Marcel Dekker. New York, United State.
- Cabrera, N., (2007). *Elementos de Química Analítica básica*. Análisis cuantitativo. Editorial Universidad de Cables Ciencias exactas y Naturales 2da. Edición. Colombia
- Comisión Europea. (2015). *Guía de Buenas prácticas de Manufactura de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario. Anexo 15: Calificación y Validación*. Volumen 4. Bélgica.
- Contreras, D., (2013). *Estudio de Filtrabilidad a presión constante para la selección de filtros en un área de producción de fórmulas farmacéuticas estériles de bajo volumen*. Tesis de Licenciatura en Química Farmacéutica, Universidad del Valle de Guatemala. Guatemala.
- Covo, M., (2010). *Apuntes sobre filtración de fluidos en la industria farmacéutica*. 1ª edición. Buenos Aires, EDICIONES VR S.A. 71 pp.
- EUDRALEX. (2003). *Buenas Prácticas de productos médicos para humanos y veterinarios*. Volumen 4. Comisión Europea.
- Feigenbaum, A., (1986). *Control Total de la Calidad*, editorial CECSA, México DF., 309-332, 379-650. 1986.
- Fennington, G., (1997) *Preparation and evaluation of bacterial stock for filter Validation*. PDA. Journal of Pharmaceutical Science and Technology.
- Food and Drug Administration. (2011). *Guía para la Industria. Procesos de Validación: Principios Generales y Prácticos*. Estados Unidos. 19p.

- Food and Drug Administration. (1998). *Guideline on Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing*. Rockville, MD.: Center for Drugs and Biologics. Estados Unidos.
- Galeano, N. (2007). *Validación de Retención Microbiana en los filtros de acetato y nitrato de celulosa empleados de la técnica de filtración por membrana para la prueba de esterilidad*.: Pontificia Universidad Javeriana, Facultad de Ciencias, Carrera de Microbiología Industrial. Bogotá, Colombia.
- González, C. (2005). *Validación retrospectiva y control estadístico de procesos en la industria farmacéutica*. Tesis Universidad de Chile, Santiago de Chile. 56 pp.
- Gutiérrez, H. (1997). *Calidad Total y Productividad*, editorial McGraw-Hill. México, 172-176, 199-208.
- ICH Q1A. (2003). "Estudios de estabilidad de medicamentos "Guía de armonización tripartita. Conferencia internacional de armonización de requerimientos técnicos para productos farmacéuticos de uso humano. Unión Europea, Japón, Estados Unidos.
- Jordan, G. (1959). *Micro-Filtration in the Production of Parenterals*. Bull Parenteral Drug Association.
- Kume, H., (2002). *Herramientas básicas estadísticas para la Mejora de Calidad*. Editorial Norma. Bogotá, Colombia.
- Lopez, P., Riveros, M. (2000). El Concepto de Validación en los Procesos Farmacéuticos. Apuntes del curso postítulo dictado por la Universidad de Chile.
- Milipore. (2001). Filter Types. Estructure and Characteristics. Extraído el: 09 de junio 2019.
<http://www.milipore.com/catalogue.nsf/docs/C147/>
- Montgomery, D., (1991). *Introducción al Control Estadístico de la Calidad*', grupo editorial Iberoamericana, México DF., 65-112.
- McBurnie, L., (2004). Validation of Sterile Filtration. Pharmaceutical Technology, 13-23.
- PDA. (1998). Technicar Report No. 26 "Sterilizing Filtration of Liquids".

Lukaszewicz, R., (1981). Prefilters/Final Filters: A Matter of Particle/Pore Size-Distributions. J. Parent. Sci. Tech., 35, 40-47.

Kesting, L., (1983). Nylon Microfiltration Membranes: State of Art. J. Parent. Sci. Tech., 37, 97-104.

OMS. (Organización Mundial de la Salud) (1998). *Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF): Segunda parte: Validación*. Suiza.

Organización Mundial de la Salud. 158 p.

Reglamento Técnico Centroamericano. (2010). RTCA 11.01.04:10 Productos farmacéuticos. Editado por Ministerio de Economía – MINECO-, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología – CONACYT-, Ministerio de Fomento, Industria y Comercio –MIFIC- Secretaría de Industria y Comercio – SIC-. Ministerio de Economía, Industria y Comercio –MEIC-

Rodríguez, A. G. (2010). *Validación del proceso de filtración esterilizante*. Tesis de Maestría en Tecnología y Control de Medicamentos. Habana, Cuba: Instituto Finlay.

XIII. ANEXOS

- ✓ Protocolo de Validación

- ✓ Diagrama de Flujo para Reto microbiológico

- ✓ Instructivo para realización de prueba de integridad a membranas filtrantes grado esterilizante.

- ✓ Instructivo para la filtración esterilizante

- ✓ Certificado de calidad de la membrana filtrante

- ✓ Ficha USP de la materia prima Dipirona.



PROCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

1. DEFINICIONES Y ABREVIATURAS

Aguas abajo:

Dentro de un sistema filtrante corresponde a todo fluido que ya haya pasado por el medio filtrante. También es conocido dentro del argot en aspectos de filtración como "zona limpia del filtro" y en el caso de filtros esterilizables "zona estéril".

Aguas arriba

Dentro de un sistema filtrante corresponde a todo fluido que se encuentre previo a su paso por el medio filtrante. También es conocido dentro del argot en aspectos de filtración como "zona sucia del filtro" y en el caso de filtros esterilizables "zona no estéril".

Esterilidad

Ausencia de microorganismos viables.

Extractables

Compuestos que se pueden extraer del sistema filtrante cuando entran en contacto con agua como solvente.

Filtración

Método físico-mecánico para separación de sustancias. Remoción de contaminantes de un fluido (líquido o gas) mediante el uso de un medio poroso.

Prueba de flujo difusivo

La prueba de flujo de aire difuso es una extensión de la ley de difusión de Fick, la cual representa una función de la porosidad total de un filtro.

A presiones diferenciales por debajo del punto de burbuja, las moléculas de gas migran a través de los poros llenos de agua de una membrana humectada, siguiendo la Ley de Difusión de Fick. El caudal de difusión de un gas a través de un filtro es proporcional a la presión diferencial y a la superficie total del filtro. Para determinar la integridad del filtro, se mide el gas que difunde a través de la membrana aplicando una presión de aproximadamente el 80% del punto de burbuja. El caudal difusivo es muy bajo en los filtros de áreas pequeñas, pero es significativo en filtros de gran superficie. Se han establecido especificaciones de máxima difusión aceptable para cada membrana y dispositivo, y se utilizan para predecir los resultados de la prueba de retención bacteriana

Pruebas de integridad

Pruebas no destructivas de integridad se deben realizar antes y después de usar el filtro. Los ensayos antes de usar el filtro controlan la integridad del filtro, antes de procesar un lote de producto, evitando el uso de un filtro no íntegro.

Los ensayos de integridad después de que un lote de producto haya sido filtrado pueden detectar si la integridad del filtro se ha visto comprometida durante el proceso de

filtración. La detección de un filtro defectuoso alerta inmediatamente a los técnicos responsables de



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

cualquier problema después de haber procesado el lote, eliminando demoras y permitiendo un reprocesado rápido.

Hay tres tipos de ensayos no destructivos: el ensayo de punto de burbuja, el ensayo de difusión y el ensayo de caudal de agua en filtros hidrófobos. Los ensayos de retención de presión, caída de presión o de caudal en el sentido de la filtración, son variantes del ensayo de difusión.

Prueba de LAL

La prueba LAL (*Limulus ameobocyte lysate*) se emplea para identificar y detectar límites de endotoxinas bacterianas, mediante una reacción de coagulación y formación de un gel de los líquidos parenterales.

Prueba de punto de burbuja

La prueba de punto de burbuja se basa en el fenómeno de capilaridad ascendente. Los poros del filtro pueden considerarse capilares circulares. El agua sube a través de ellos, debido a la propensión a humedecer las paredes del poro. El ascenso del agua se produce a través del perímetro capilar (perímetro del poro), produciendo una humectación perfecta, que es facilitada por la tensión superficial del líquido. Existe una relación inversa entre el diámetro del poro y la presión necesaria para desbalancear (expulsar el líquido del capilar) el ascenso capilar. En consecuencia, el punto de burbuja refleja los poros más grandes presentes en la membrana.



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

2. ESPECIFICACIONES DEL PROTOCOLO DE VALIDACIÓN

Condiciones generales (Criterios de Aceptación):

El protocolo de validación del proceso de filtración esterilizante se considera aceptado cuando se cumplen los criterios establecidos en el presente protocolo de validación, en concordancia con las normativas y guías nacionales e internacionales aplicables para la industria farmacéutica.

Tabla No. 1: Criterios de aceptación de la validación del proceso de filtración esterilizante.

Validación de Filtración esterilizante para productos parenterales de bajo volumen													
	Criterio de Aceptación												
1	<p>1.1. Evaluación de la Compatibilidad de la membrana.</p> <p>Especificaciones: conforme a los resultados del estudio de filtrabilidad a presión constante para la selección de filtros en un área de producción de fórmulas farmacéuticas estériles de bajo volumen" (calificación del filtro) quedan seleccionadas las siguientes dos membranas:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Filtro grado esterilizante 0.2 micras absolutas, membrana de polietersulfona, para soluciones 100% acuosas, estable a pH de 1-14. 2. Filtro grado esterilizante 0.2 micras absolutas, membrana de polivinildiflurano, para mezclas de soluciones acuosas más cosolventes orgánicos. Estable a pH de 2 a 12 <p>Referencias: "Estudio de filtrabilidad a presión constante para la selección de filtros en un área de producción de fórmulas farmacéuticas estériles de bajo volumen!".</p> <p>1.2. Estandarización de parámetros de operación y tiempos de filtración.</p> <p>Especificaciones: los parámetros de operación de acuerdo a la membrana:</p> <table border="1" style="margin-left: auto; margin-right: auto;"> <thead> <tr> <th>Membrana</th> <th>Profundidad nominal (pulgadas)</th> <th>Máxima presión de operación (psi)</th> <th>Máxima temperatura de operación: (°C)</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>PES</td> <td>5</td> <td>75</td> <td>40</td> </tr> <tr> <td>PES</td> <td>10</td> <td>43</td> <td>80</td> </tr> </tbody> </table> <p>Referencias: Especificaciones de proveedor y tiempos experimentales.</p>	Membrana	Profundidad nominal (pulgadas)	Máxima presión de operación (psi)	Máxima temperatura de operación: (°C)	PES	5	75	40	PES	10	43	80
Membrana	Profundidad nominal (pulgadas)	Máxima presión de operación (psi)	Máxima temperatura de operación: (°C)										
PES	5	75	40										
PES	10	43	80										
2	<p>2.1 Evaluación retrospectiva de retención del activo sobre la membrana filtrante, para el peor caso.</p> <p>Especificación: La cuantificación del principio activo cumple las especificaciones de producto terminado definido como peor caso.</p> <p>Referencia: Resultados analíticos de los últimos 20 lotes del producto seleccionado como peor caso fabricados y analizados bajo las mismas condiciones.</p>												

	<ul style="list-style-type: none">o Dipirona 2g/5mL
3	Eficiencia del Filtro 3.1 Reto microbiológico: Determinación de la retención bacteriana del medio filtrante. Especificación: La solución cumple esterilidad y límites de endotoxina: 0.25 UE/mL. <i>Referencia:</i> Especificación del Proveedor ASTM Methodology with <i>Brevundimonas diminuta</i> bacteriana
4	4.1. Pruebas de integridad (método no destructivo) de la membrana: Cumple con especificaciones de proveedor <i>Referencia:</i> Especificación del Proveedor.

Fuente de obtención: datos experimentales.



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

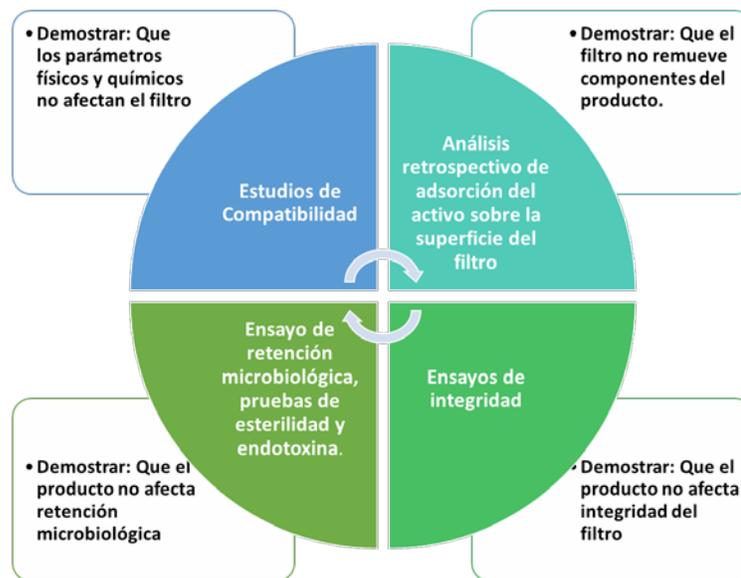
Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

3. Validación de filtración esterilizante (procedimiento)

3.1 Generalidades

El protocolo de validación para filtración esterilizante, se considera aceptado cuando se cumple con todos los criterios que se enuncian a continuación:

PLAN MAESTRO DE VALIDACIÓN



3.2 Fundamento teórico de la metodología de trabajo:

El protocolo de validación del proceso de filtración esterilizante deberá cumplir con los criterios de análisis para la relación del líquido filtrado y el medio filtrante respecto a: Características fisicoquímicas del efluente frente al medio filtrante (producto afecta al filtro), adsorción del medio filtrante de alguna característica química del efluente (filtro afecta al producto), ensayos microbiológicos de los efluentes (eficiencia de retención del filtro). El mantenimiento del estado validado del proceso de filtración se comprobará mediante la ejecución de las pruebas de integridad sobre las membranas filtrantes de obligatorio cumplimiento antes del uso del filtro y después del uso del mismo por cada lote de producto procesado.

3.3 Revisión Bibliográfica

Principios de filtración:

El mecanismo de la detención o captura de partículas en el medio filtrante se llama indistintamente: retención del filtro, captura física, la intercepción directa, exclusión por tamaños. No existe un único mecanismo por el cual actúan los filtros; se ha comprobado que actúan todos los fenómenos físicos (captura física, intercepción directa, exclusión por tamaño) sobre la membrana, sin embargo, factores externos al medio filtrante (caracterización del efluente) pueden influir directamente en la capacidad del filtro para retener las partículas, estos factores externos pueden incluir: la tasa de presión diferencial aplicada, el número de partículas presentes (bioburden



PROCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

de la solución), y naturaleza del vehículo: tensión superficial, el pH y la fuerza iónica, entre otros factores. Todos deben ser considerados y comprendidos en la validación del filtro.

Clasificación de los filtros:

- Los filtros se clasifican según las siguientes características:
- Según su disposición: filtros de membrana o filtros de profundidad.
- Según su capacidad y eficiencia de retención: en filtros absolutos o nominales.
- Según la naturaleza de operación: en filtros esterilizantes o clarificantes según la naturaleza de operación.

Filtros de Profundidad, Absolutos, grado esterilizante:

Compuestos por una membrana fibrosa (polietersulfona) dispuesta al azar (sujetos a una matriz de polipropileno, estos filtros requieren una carcasa de acero inoxidable para ser utilizados en planta de producción), de manera que dentro de la estructura del filtro se crean vías tortuosas, donde quedan retenidos los contaminantes presentes en la solución. Se considera que cumple con la característica absoluta, aquella membrana filtrante que puede ser medida su eficiencia respecto a los tamaños del poro dispuestos sobre toda la superficie filtrante. No existe un método de ensayo universalmente aceptado para la medición o descripción del tamaño de poro o el tamaño de las partículas que puede retener el elemento filtrante. Existe un procedimiento de ensayo, llamado multi-pass testing o Beta ratio testing (ensayo relación beta), que es un ensayo aceptado universalmente que produce resultados comparables. Multi-pass testing usa un contaminante específico, de tamaños conocidos, que se va añadiendo regularmente en cantidades establecidas del fluido que se bombea continuamente a través del filtro. Muestras medidas de fluido se van tomando a ciertos intervalos, tanto en aguas arriba como en aguas abajo del filtro de manera simultánea. Las partículas se miden y cuentan por medio de métodos electrónicos usando contadores automáticos de partículas. De estas medidas se puede obtener el Beta ratio (b) dividiendo el número de partículas de cierto tamaño en aguas arriba, entre el número de partículas del mismo tamaño aguas abajo:

$$\beta_X = N_u / N_d$$

donde β_x = es la relación beta para contaminantes mayores que X mm.

N_u = es el número de partículas mayores de Xmm por unidad de volumen aguas arriba.

N_d = es el número de partículas mayores de Xmm por unidad de volumen aguas abajo.

La relación beta es un indicador de como un filtro controla los compuestos particulados. Por ejemplo, si uno de cada dos partículas (>Xmm) en un fluido pasan a través del filtro, la relación beta a Xmm es de dos, si una de cada 200 partículas (>Xmm) pasan a través del filtro la relación beta es de 200.

Por lo tanto, los filtros con una relación beta mayor retienen más cantidad de partículas y tienen mayor eficiencia.

La eficiencia para un tamaño de partícula determinado (E_x) puede derivarse directamente de la relación beta mediante la siguiente ecuación:



PROCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

$$Ex = (\beta x - 1) / \beta * 100\%$$

Se ha considerado que para un filtro grado esterilizante (0.20 μm) la eficiencia estándar deberá corresponder como mínimo a 99.98% que se correlaciona con un valor β 5000. En términos de interpretación de la correlación β 5000 garantiza que el 99.98% de los poros sobre la membrana corresponden al tamaño de 0.20 μm .

La característica "Grado esterilizante" para un filtro, corresponde a aquellas membranas que han superado el desafío microbiano con *Brevundimonas diminuta* ATCC 19146. El desafío microbiano se considera aprobado si la membrana retiene un mínimo de 1×10^7 UFC de *Brevundimona diminuta* ATCC 19146 / por cm^2 de área de filtración efectiva.

Una capsula absoluta grado esterilizante es un sistema de filtración que está compuesto por una carcasa de polipropileno y FILTRO DE PROFUNDIDAD, ABSOLUTOS, GRADO ESTERILIZANTE. Estos sistemas de filtración se diseñan de tal forma que están listos para el uso y no requieren ningún procedimiento de alistamiento para instalación en el proceso de manufactura.

3.4 Definición de producto denominado como "peor caso" y Especificaciones de Membrana Filtrante

La planta de producción tiene establecido un total de 38 graneles cuya ruta de trabajo indica que deben ser esterilizados por el método de filtración absoluta. Se identifico el producto que cumpla con las características físicas que pueden comprometer la retención en el medio filtrante según las especificaciones de la membrana que indica el proveedor. El producto denominado como peor caso es el producto identificado con una sobresaturación del principio activo en el solvente y se describe en la tabla 3.

Las especificaciones de la membrana a trabajar y el producto clasificado como peor caso se presentan en la tabla No. 2, que muestra una membrana hidrofílica de polietersulfona (PES) hidrófila (afín al agua), construida de polímeros de polietersulfona; tienen excelente velocidad de flujo y, por lo tanto, un alto volumen filtrable. Es posible filtrar soluciones biológicas y farmacéuticas en el amplio rango de pH de 1-14, gracias a su baja adsorción de proteínas.

TABLA NO.2: ESPECIFICACIONES DE MEMBRANA FILTRANTE:

Membrana	Presión de filtración	Afinidad de la membrana al efluente	Rango de pH de la solución a filtrar
PES*	0- 75 psi	100% acuosas	1-14

Fuente: datos experimentales.

TABLA NO.3: ESPECIFICACIONES DE PRODUCTO DENOMINADO COMO PEOR CASO:

NOMBRE DEL PRODUCTO	CONCENTRACIÓN DEL ACTIVO	CARACTERISTICA DE PEOR CASO A EVALUAR
Dipirona	2g / 5 mL	Solución sobresaturada.

Fuente: datos experimentales



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

3.5 Materiales y Equipo

Realizar un checklist de todos los materiales, equipos y/o instrumentos necesarios para llevar a cabo las pruebas de validación, indicar si los mismos se encuentran calibrados (vigente) y/o cuentan con certificado de validación vigente.

Tabla No. 4: Requisitos de Sistemas, Áreas, Equipos, Instrumentos y Materiales Para la Validación

No.	Material / Equipo / Instrumento	Cuenta con calibración o certificado de validación Vigente o registros de evidencia
1	VALIDACIÓN DE SISTEMA DE AGUA PARA INYECCIÓN VIGENTE	<input checked="" type="checkbox"/>
2	VALIDACIÓN DE SISTEMA HVAC VIGENTE	<input checked="" type="checkbox"/>
3	VALIDACIÓN DE SISTEMA DE AIRE COMPRIMIDO VIGENTE	<input checked="" type="checkbox"/>
4	CALIFICACIÓN AUTOCLAVE SERCOM VIGENTE	<input checked="" type="checkbox"/>
5	CALIFICACIÓN VIGENTE DE CABINA DE BIOSEGURIDAD	<input checked="" type="checkbox"/>
6	CALIFICACIÓN DE HORNO DESPIROGENIZADOR	<input checked="" type="checkbox"/>
7	CALIFICACIÓN DE ÁREA LIMPIA ISO 5	<input checked="" type="checkbox"/>
8	CERTIFICADO DE CALIBRACIÓN DE EQUIPO PARA PRUEBAS DE INTEGRIDAD PALLTRONIC FLOWSTAR IV	<input checked="" type="checkbox"/>
9	REGISTROS DE ESTERILIZACIÓN SISTEMA PARA FILTRACIÓN (MANGUERAS, RECIENTE DE ACERO INOXIDABLE).	<input checked="" type="checkbox"/>
10	CERTIFICADO DE CAPSULA DE 5" DE PROFUNDIDAD, MEMBRANA PES.	<input checked="" type="checkbox"/>
11	REGISTRO DE DESPIROGENIZACIÓN DE ENVASES PARA ALMACENAMIENTO ESTÉRIL	<input checked="" type="checkbox"/>

Fuente: datos experimentales



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

3.6 Metodología:

I. Evaluación de la compatibilidad de la membrana

Se tomó como referencia el “estudio de filtrabilidad a presión constante para la selección de filtros en un área de producción de fórmulas farmacéuticas estériles de bajo volumen”, que se considera la calificación de la membrana filtrante, con el producto denominado como peor caso para este estudio.

Se tomaron los resultados de saturación de la membrana, caudales de filtración y recomendaciones técnicas para la membrana seleccionada.

Estandarización de parámetros de operación y tiempos de filtración.

Se realizó el proceso de filtración conforme lo indica el INSTRUTIVO PARA FILTRACION DE PRODUCTOS PARENTERALES. Para realizar la medición de los parámetros del proceso de filtración del producto denominado como peor caso. Los parámetros evaluados fueron:

- Nombre del producto.
- Número de lote de producto procesado.
- pH de la solución a procesar.
- Temperatura de la solución a procesar.
- Volumen total filtrado.
- Tipo de membrana filtrante utilizada.
- Tiempo total de filtración.
- Presión de filtración.
- Densidad

II. Evaluación retrospectiva de adsorción del activo sobre la membrana filtrante, para el peor caso.

Revisión documental de los resultados analíticos de los últimos 20 lotes del producto denominado como peor caso fabricados y analizados bajo las mismas condiciones.

Tabla No. 5 evaluación retrospectiva de la adsorción del activo

CONCENTRACIÓN DEL ACTIVO	ESPECIFICACION PARA CUANTIFICACION DE ACTIVO
Dipirona 2g / 5 mL	90-110 %

Fuente: datos experimentales.

Se determinó la capacidad del proceso respecto a los resultados analíticos reportados en el sistema para los últimos 20 lotes fabricados. La capacidad del proceso debe ser mayor a 1,33 para indicar que la filtración esterilizante que es el parámetro de evaluación, no retiene activo sobre su superficie. Los Índices de proceso determinados y su interpretación son los siguientes:



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

Tabla No. 6. Tabla de índices de Capacidad de Proceso

Valor índice	Condición	Resultado
$C_p > 1,33$	Adecuado	3.47
$1 < C_p < 1,33$	Adecuado, pero requiere de un control estricto	NA
$0,67 < C_p < 1,33$	No adecuado, requiere un análisis del proceso	NA
$C_p < 0,67$	No adecuado, requiere modificaciones	NA
$C_{pk} = C_p$	El proceso está centrado	NA
$C_{pk} < C_p$	El proceso no está centrado	3.17
$C_{pm} > 1,33$	La media del proceso está dentro de la quinta parte media de las especificaciones	2.36
$C_{pm} > 1,0$	La media del proceso está dentro de la tercera parte media de las especificaciones	NA

Fuente: datos experimentales.



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

III. Determinar eficiencia del filtro:

- Reto microbiológico:

La prueba de retención microbiológica de la membrana filtrante, se llevó a cabo con la inoculación de un organismo endémico de la planta de manufactura en el producto denominado como peor caso.

Respecto a las membranas filtrantes se utilizaron, tres filtros de lote distinto de membrana PES, se adjuntan certificados de calidad del proveedor al anexo del informe. Cada filtro cumplió con la característica de ser GRADO ESTERILIZANTE (0.20 μm) ABSOLUTO ($\beta 5000$). El desafío microbiológico midió la retención microbiológica de la membrana que cumplió con la característica de retener no menos de 1×10^7 UFC/cm². en un área filtrante de 0.15m².

- Selección del microorganismo de prueba:

Monitoreo de aislamientos nativos en personal de planta: Durante la revisión se determina que los aislamientos nativos endémicos en planta, asociados al proceso, son en su mayoría del género *Bacillus* *Shapylococcus* coagulasa negativo. Se seleccionó como microorganismo de prueba una cepa de *Shaphylococcus epidermidis* ATCC 12228, utilizando el criterio de menor tamaño (0.5-1.5 micras) comparado con el género *Bacillus* (4 -10 micras).

- Selección del fluido de prueba:

Se Realizó la prueba de viabilidad de crecimiento microbiológico de *S. epidermidis* atcc12228, utilizando como medio líquido el producto denominado como peor caso. Se considera que el microorganismo es apropiado para la prueba ya que la recuperación respecto al inóculo no presenta una reducción mayor a una unidad logarítmica.

- Desarrollo de la Prueba: Verificada la viabilidad del crecimiento microbiológico se procedió de la siguiente manera con el desarrollo de la prueba:

Por bioseguridad del área de manufactura de productos parenterales y debido a que se trabajarán cargas biológicas, las pruebas se realizaron en cabina de bioseguridad, ubicada en el laboratorio de microbiología del laboratorio fabricante.

1. Se prepararon 10 L de producto: Dipirona 2g/5mL; para ser inoculada con una concentración de *S. epidermidis* atcc12228 de 1.5×10^{10} UFC. Por cada membrana se realizó una filtración esterilizante de 10 L con una biocarga que satura la capacidad teórica de retención de la membrana filtrante sujeta a estudio. El proceso se realizó por triplicado.
2. Se sanitizó la cabina de bioseguridad.



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

3. Se Armó sistema filtrante según el INSTRUTIVO PARA FILTRACION DE PRODUCTOS PARENTERALES.
4. Se Realizó prueba de punto de burbuja inicial según INSTRUTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE PRUEBAS DE INTEGRIDAD PARA FILTROS GRADO ESTERILIZANTE.
5. Se Filtraron diez litros de producto inoculado con una concentración de *S. epidermidis* atcc12228 de 1.5×10^{10} UFC.
6. Se tomaron muestras de esterilidad en envase y tapa estéril para análisis microbiológico.
7. Se Ejecutó prueba de integridad final según INSTRUTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE PRUEBAS DE INTEGRIDAD PARA FILTROS GRADO ESTERILIZANTE.

- Selección del medio filtrante:

Se utilizó la membrana según las siguientes especificaciones:

- Capsula filtrante de membrana grado esterilizante PES, absoluto.
- Profundidad nominal 5".
- Área efectiva de filtración: 0.15m^2
- Capacidad total de retención: 1.5×10^{10} UFC.

- Cálculo de la capacidad total de retención de membrana filtrante:

*Capacidad de retención = capacidad de retención por cm^2 * area efetiva de filtración en cm^2*

$$Cr = 1 \times 10^7 \frac{\text{ufc}}{\text{cm}^2} * \left(0.15\text{m}^2 * \frac{10000 \text{ cm}^2}{1\text{m}^2} \right) = 1.5 \times 10^{10} \text{ ufc}$$

IV. Pruebas de Integridad

Según resultados de prueba RETENCIÓN MICROBIOLÓGICA DE MEMBRANA FILTRANTE, y el INSTRUTIVO PARA LA DETERMINACIÓN DE PRUEBAS DE INTEGRIDAD PARA FILTROS GRADO ESTERILIZANTE se ejecutaron las pruebas no destructivas de integridad de membrana, para el inicio y final del proceso de filtración esterilizante.



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

Criterios de aceptación comparados con resultados de prueba																				
Criterio	Resultado	Aprobado/Rechazado																		
<p>"Evaluación de la compatibilidad de la membrana y el producto. Membrana" de polietersulfona caracterizada con un área efectiva de filtración de 0.15m², rango de uso para pH de entre 1 y 14, temperatura hasta 60 grados centígrados y presión hasta 75 PSI.</p>	<p>Condiciones estandarizadas de operación para el proceso de filtración esterilizante con la membrana polietersulfona de pH medio 6.87, temperatura constante de 40 grados centígrados y presión constante de 30 PSI.</p>	Aprobado																		
<p>"Retención del principio activo sobre la membrana", El proceso de fabricación evaluado bajo la variable de Cuantificación del activo en el producto terminado se encuentra bajo control estadístico.</p> <p>Proceso con un Cpk >1.33</p>	<p>Proceso bajo control estadístico para la variable de cuantificación del activo en el producto terminado demostrando una Capacidad real del proceso (CPk) = 3.17</p>	Aprobado																		
<p>"Eficiencia del filtro", Producto sometido a reto microbiológico cumple con ensayos de: Esterilidad Endotoxina</p>	<p>Producto sometido a reto microbiológico cumple es: Estéril y libre de pirógenos.</p>	Aprobado																		
<p>"Eficiencia del Filtro" Filtro cumple con pruebas de integridad posterior a ser sometido a reto microbiológico. Flujo difusivo < 4.44 mililitros/minuto</p>	<p>Prueba de integridad de flujo difusivo en conformidad con especificación para los tres lotes piloto</p> <table border="0"> <tr> <td>Filtro</td> <td>Lote</td> <td></td> </tr> <tr> <td>1=3.30mililitros/minuto</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Filtro</td> <td>Lote</td> <td>2</td> </tr> <tr> <td>=2.48mililitros/minuto</td> <td></td> <td></td> </tr> <tr> <td>Filtro</td> <td>Lote</td> <td>3=3.47</td> </tr> <tr> <td>mililitros/minuto</td> <td></td> <td></td> </tr> </table>	Filtro	Lote		1=3.30mililitros/minuto			Filtro	Lote	2	=2.48mililitros/minuto			Filtro	Lote	3=3.47	mililitros/minuto			Aprobado
Filtro	Lote																			
1=3.30mililitros/minuto																				
Filtro	Lote	2																		
=2.48mililitros/minuto																				
Filtro	Lote	3=3.47																		
mililitros/minuto																				
Redactado por: Cbarrios	Verificado Por: F.Lopez																			



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

Informe de Validación del Proceso

Resultados:

En base a los puntos desarrollados de la validación del proceso de filtración esterilizante para el producto seleccionado como peor caso de una línea de producción de medicamentos parenterales de bajo volumen se considera que se cumple con pruebas de eficiencia microbiológica de esterilidad y endotoxina, se cumple con pruebas de integridad no destructivas de flujo difusivo y se evidencia que el proceso de filtración esterilizante no tiene impacto sobre la calidad fisicoquímica del producto farmacéutico, pues se desarrolló como un proceso bajo control estadístico mediante la evaluación de la variable de cuantificación de activo en el producto terminado; y que los criterios de cumplimiento para el mantenimiento del estado validado son pH medio de 6.87, presión de filtración constante de 30 PSI, temperatura de filtración de 40 grados centígrados, caudal de filtración de rango 3.7 y 3.9 litros por minuto, uso de membrana filtrante de polietersulfona de 0.15 m² de área filtrante para un tamaño de lote productivo de 150 L manipulado bajo condiciones asépticas y en cumplimiento con las buenas prácticas de manufactura vigentes.

Conclusiones

1. Las variables analizadas para el proceso de filtración esterilizante del producto Dipirona 2g/5mL, muestran que a condiciones estándar de: temperatura de 40 grados centígrados, presión constante de 30 PSI y pH medio de 6.87 para un lote de 150L, el producto es compatible con la membrana de polietersulfona, minimizando el riesgo de generar contaminación aguas abajo (lixiviables) y la eficiencia del proceso es buena manteniendo un caudal de filtración promedio de 3.7 litros filtrados por minuto.
2. El estudio de la capacidad del proceso de fabricación de la solución Dipirona 2g/5mL, genera los siguientes índices de capacidad de Proceso: Cp de 3.47 mayor que el índice 1.33 que indica que el proceso se encuentra bajo control estadístico.
3. El reto microbiológico indica que la membrana Polietersulfona para el producto denominado como peor caso, bajo condiciones estandarizadas de filtración, cumple con especificación de esterilidad y endotoxina.
4. Posterior a la filtración del producto inoculado con concentración saturada del organismo viable, la membrana polietersulfona cumplen con prueba de integridad de flujo difusivo con caudales de gas menores a la especificación del proveedor de 4.40 mililitros/minuto en las tres repeticiones.

Redactado Por: CBarrios

Aprobado Por: Flopez



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

4. Registros de Validación

Registro de Validación 01-00			
EVALUACIÓN DE LA COMPATIBILIDAD DE LA MEMBRANA			
Característica	Membrana	Producto "Peor Caso"	Compatible (SI/NO)
Nombre:	Suporlife	Dipirona	NA
Principio Activo	Polietersulfona	2 g Dipirona Magnésica	NA
Rango de pH de operación	1-14	6-7.3	SI
Rango de Presión de Operación	0-75 psi	0 - 30 psi	SI
Rango de Temperatura de Operación	15-60 grados centígrados	14 - 40 grados centígrados	SI
Polaridad	Hidrofílico	Hidrofílico	SI
Afinidad	100% acuosa	100% acuoso	SI
Realizado Por:		Revisado Por	
C.Barrios		F.Lopez	

Fuente: datos experimentales



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

Registro de Validación 02-00									
ESTANDARIZACIÓN DE PARÁMETROS DE OPERACIÓN Y TIEMPOS DE FILTRACIÓN									
Producto:		Dipirona 2g/5mL			Membrana		Polietersulfona		
LOTE	VOLUMEN EN FILTRADO	PH	CRITERIO	TEMPERATURA	CRITERIO	PRESIÓN	CRITERIO	TIEMPO FILTRACIÓN	CUMPLE
1	150L	6.91	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	55 minutos	Cumple
2	150L	6.81	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	58 minutos	Cumple
3	150L	6.83	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	57 minutos	Cumple
4	150L	6.82	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	59 minutos	Cumple
5	150L	6.9	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	57 minutos	Cumple
6	150L	6.86	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	56 minutos	Cumple
7	150L	6.85	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	55 minutos	Cumple
8	150L	6.88	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	58 minutos	Cumple
9	150L	6.91	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	60 minutos	Cumple
10	150L	6.9	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	56 minutos	Cumple
11	150L	6.82	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	61 minutos	Cumple
12	150L	6.85	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	57 minutos	Cumple

13	150L	6.81	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	56 minutos	Cumple	
14	150L	6.82	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	60 minutos	Cumple	
15	150L	6.89	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	58 minutos	Cumple	
16	150L	6.88	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	61 minutos	Cumple	
17	150L	6.85	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	59 minutos	Cumple	
18	150L	6.85	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	58 minutos	Cumple	
19	150L	6.88	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	58 minutos	Cumple	
20	150L	6.86	1-14	40	15-60 °C	30	0-75 psi	55 minutos	Cumple	
Realizado por:		C.Barrios				Revisado Por:		F.Lopez		

Fuente: Datos experimentales



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

Registro de Validación 03-00			
CUANTIFICACIÓN DEL PRINCIPIO ACTIVO EN EL PRODUCTO TERMINADO			
NO	Cuantificación del Activo:	CRITERIO	CUMPLE
1	98	90-110%	Cumple
2	99	90-110%	Cumple
3	96	90-110%	Cumple
4	100	90-110%	Cumple
5	100.2	90-110%	Cumple
6	99	90-110%	Cumple
7	99.5	90-110%	Cumple
8	98.4	90-110%	Cumple
9	97.9	90-110%	Cumple
10	100	90-110%	Cumple
11	100.3	90-110%	Cumple
12	100	90-110%	Cumple
13	99	90-110%	Cumple
14	99.3	90-110%	Cumple
15	98.7	90-110%	Cumple
16	97.9	90-110%	Cumple
17	100	90-110%	Cumple
18	100.4	90-110%	Cumple
19	99.9	90-110%	Cumple
20	99.2	90-110%	Cumple
Realizado por:	C. Barrios	Revisado por:	F.Lopez

Fuente: datos experimentales



PROTOCOLO DE VALIDACIÓN No. 01

Validación del proceso: PROCESO FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

Registro de Validación 04-00

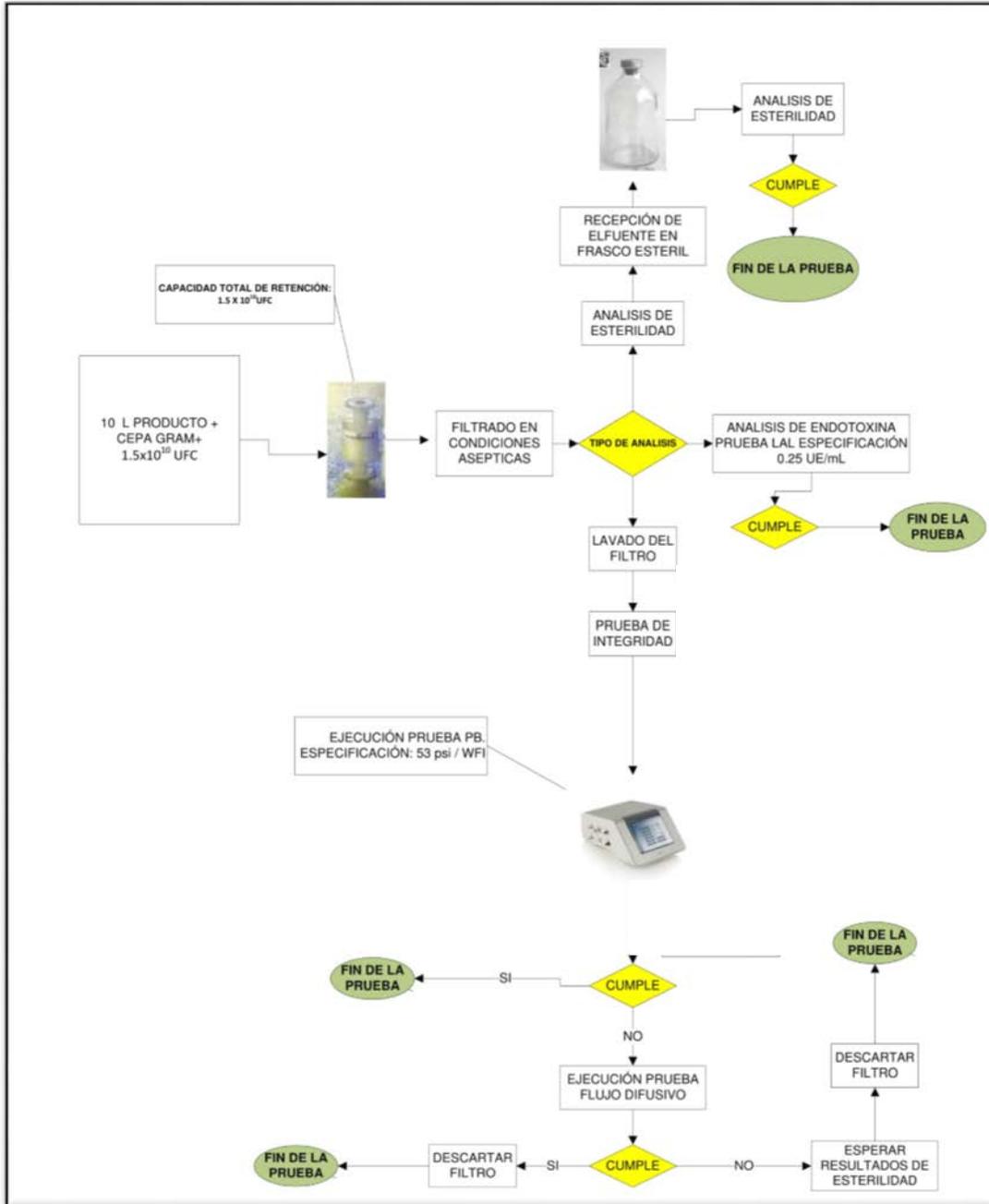
RETENCIÓN MICROBIOLÓGICA

CORRIDA	NOMBRE DE PRODUCTO	LOTE DEL FILTRO	ESTERILIDAD	CRITERIO	ENDOTOXINA	CRITERIO	PRUEBA DE INTEGRIDAD	CRITERIO Mililitros/Minuto	CUMPLE
1	DIPIRONA 2G	FA196701 24	Estéril	Estéril	<0.25 UE/mg	<0.25 UE/mg	3.30	4.5	Cumple
2	DIPIRONA 2G	FA319301 44	Estéril	Estéril	<0.25 UE/mg	<0.25 UE/mg	2.48	4.5	Cumple
3	DIPIRONA 2G	FA196701 12	Estéril	Estéril	<0.25 UE/mg	<0.25 UE/mg	3.47	4.5	Cumple
Realizado Por:		C.Barrios		Revisado Por:	F.LOPEZ				

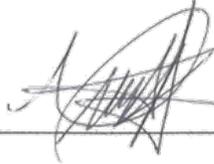
Fuente: Datos experimentales

ANEXO 2. Diagrama Del Proceso de evaluación de retención microbiológica

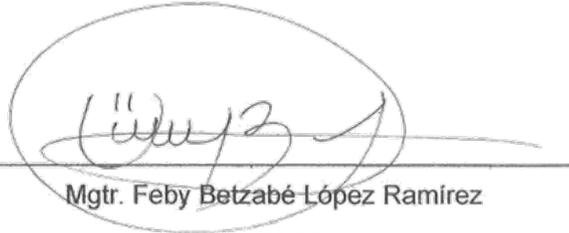
Se observa el diagrama de flujo para el proceso de evaluación de la retención microbiológica para 3 lotes piloto inoculados con el organismo seleccionado como viable en el producto y filtrados a través de un filtro de membrana de Polietersulfona. los análisis microbiológicos y pruebas de integridad a realizar.



Fuente. Datos experimentales

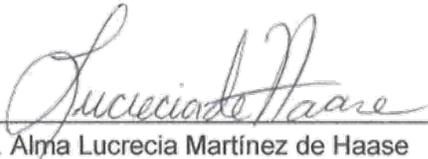


Br. CLAUDIA VICTORIA BARRIOS NORIEGA



Mgtr. Feby Betzabé López Ramírez

ASESOR



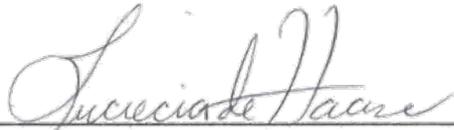
M.A. Alma Lucrecia Martínez de Haase

CO-ASESOR



Lic. Francisco Estuardo Serrano Vives

REVISOR



M.A. Alma Lucrecia Martínez de Haase

DIRECTOR DE ESCUELA



M.A. Pablo Ernesto Oliva Soto

DECANO