



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE
FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN
DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO**

Edgard Rodrigo Godínez Menéndez

Asesorado por: Licenciada Ana María Haeussler Porras

Guatemala, enero de 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE
FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN
DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR:

EDGARD RODRIGO GODÍNEZ MENÉNDEZ

ASESORADO POR: LICENCIADA ANA MARIA HAEUSSLER PORRAS

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERO QUÍMICO

GUATEMALA, ENERO DE 2008

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

DECANO	Ing. Murphy Olympo Paiz Recinos
VOCAL I	Inga. Glenda Patricia García Soria
VOCAL II	Inga. Alba Maritza Guerrero de López
VOCAL III	Ing. Miguel Ángel Dávila Calderón
VOCAL IV	Br. Kenneth Issur Estrada Ruiz
SECRETARIA	Inga. Marcia Ivonne Véliz Vargas

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

DECANO:	Ing. Sydney Alexander Samuels Milson
EXAMINADOR:	Ing. Estuardo Monroy Benítez
EXAMINADOR:	Ing. Orlando Posadas Valdéz
EXAMINADOR:	Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada
SECRETARIO:	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

Cumpliendo con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO,

tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, el 07 de Septiembre de 2007.



EDGARD RODRIGO GODÍNEZ MENÉNDEZ



El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al trabajo de graduación titulado: **VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO**, presentado por el estudiante universitario **Edgard Rodrigo Godínez Menéndez**, procede a la autorización para la impresión del mismo.

IMPRÍMASE.


Ing. Murphy Olimpo Paiz Recinos
DECANO

Guatemala, enero de 2008



/gdech



El Director de la Escuela de Ingeniería Química Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía M. Sc. Después de conocer el dictamen del Asesor con el Visto Bueno del Jefe del Departamento al trabajo de Graduación del estudiante **Edgard Rodrigo Godínez Menéndez** titulado: **“VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO”**, procede a la autorización del mismo.

Ing. Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR ESCUELA INGENIERIA QUÍMICA



Guatemala, enero de 2,008.



Guatemala, 9 de enero del 2008
Ref. EIQ.270.2007

Ingeniero
Williams Guillermo Álvarez Mejía
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería
Presente.

Estimado Ingeniero Álvarez:

Como consta en el Acta TG-046-07-B-IF le informo que reunidos los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del informe final del trabajo de graduación, para optar al título de INGENIERO QUÍMICO al estudiante universitario **EDGARD RODRIGO GODÍNEZ MENÉNDEZ**, identificado con carné No. **1996-16013**, titulado: **VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO**, el cual ha sido asesorado por la Licenciada en Química Farmacéutica, Ana María Haeussler Porras como consta en el Acta.

Habiendo encontrado el referido informe final **satisfactorio**, se procede a recomendarle autorice al estudiante **Godínez Menéndez** proceder con los trámites requeridos de acuerdo a normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

“ID Y ENSEÑAD A TODOS”

Inga. Teresa Lisely de León Arana, M.Sc.

COORDINADORA
Tribunal que revisó el informe final
Del trabajo de graduación



ESCUELA DE
INGENIERIA QUIMICA

C.c.: archivo



FACULTAD DE INGENIERIA

Guatemala, Septiembre del 2007

Ingeniero
Williams Alvarez
Escuela de Ingeniería Química
Faculta de Ingeniería
USAC
Presente

Señor Coordinador:

Me dirijo a usted con relación al trabajo de graduación presentado por el estudiante universitario EDGARD RODRIGO GODÍNEZ MENÉNDEZ titulado “VALIDACIÓN DE LA METODOLOGÍA ANALÍTICA EN EL PROCESO DE FABRICACIÓN DE UNA CREMA ANTIMICÓTICA Y LA CUANTIFICACIÓN DE CLOTRIMAZOL COMO INGREDIENTE ACTIVO”, para el cual acepté el nombramiento de asesor.

Tengo la satisfacción de informarle que en esta fecha he terminado la asesoría de dicho trabajo de graduación, y después de las revisiones necesarias considero que el mismo esta apto para su trámite final, en consecuencia me permito aprobar dicho trabajo de graduación, para los efectos legales de graduación de su autor.

Sin otro particular, me es grato suscribirme ante usted.

Atentamente,

Ana María Haussler Porras

Lic. Química Farmacéutica

Colegiado # 578

ACTO QUE DEDICO A:

DIOS

Por ser mi inspiración y empuje en busca de ser mejor día a día.

MIS PADRES

Edgard Godínez Barrios y Hada Celeste Menéndez de Godínez, por su amor, dedicación, paciencia y esfuerzo por darme los medios necesarios para culminar esta meta. Es su triunfo.

MIS HERMANAS

Nicthe, por su apoyo incondicional y todo el cariño, Anaite y Mayarí, siempre las tengo presentes aunque estén lejos.

TÍAS, TÍOS Y PRIMOS

A todos, gracias por creer en mí y darme muestras de apoyo.

AGRADECIMIENTOS A:

A mi asesora Licenciada Ana María Haeussler, por el tiempo dedicado en la elaboración del presente trabajo de graduación.

A Licenciada Mónica González, por su ayuda y conocimientos.

A todos mis amigos (gracias a Dios, por darme bastantes) ellos saben quienes son, les agradezco todo su cariño y afecto, sin ellos no sería quien soy, nuestra amistad por siempre.

ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES	XIX
GLOSARIO	XI
LISTA DE ABREVIATURAS	XVII
RESUMEN	XIX
OBJETIVOS	XXI
INTRODUCCIÓN	XXIII
1. ANTECEDENTES	1
1.1. Buenas prácticas de manufactura de productos farmacéuticos (BPM)	1
2. MARCO TEÓRICO	5
2.1 Conceptos de validación	5
2.1.1 Validación esbelta	7
2.1.2 La verificación continua de la calidad	8
2.2 Procedimiento de validación	9
2.2.1 Estructura básica	9
2.2.1.1 Revisión de procedimientos	10
2.2.1.2 Calibración	10
2.2.1.2.1 Exactitud	10
2.2.1.2.2 Precisión	11

2.2.1.2.3	Contenido del programa de calibración por pasos	11
2.2.1.3	Calificación	12
2.2.1.3.1	Calificación de instalaciones	12
2.2.1.3.2	Calificación de equipo	12
2.2.1.3.3	Calificación de personal	13
2.2.1.3.4	Entrenamiento departamental	15
2.2.1.3.5	Entrenamiento anual	15
2.2.1.3.6	Documentación	15
2.2.1.3.7	Calificación de sistemas	16
2.2.1.4	Protocolo de validación	18
2.2.1.4.1	El objetivo	19
2.2.1.4.2	El propósito	20
2.2.1.4.3	Características pertinentes de diseño del proceso o del equipo	20
2.2.1.4.4	Procedimiento real de la validación	21
2.2.1.4.5	Pruebas requeridas	22
2.2.1.4.6	Criterios de aceptación	22
2.2.1.4.7	No conformidades	23
2.2.1.5	Documentación de validación	24
2.2.1.5.1	Control de cambios	25
2.2.1.6	Revalidación	25
2.3	Validación de método	26
2.3.1	Características de desarrollo analítico	27
2.3.1.1	Selectividad	27
2.3.1.1.1	Prueba de identificación	27
2.3.1.1.2	Prueba de pureza	27
2.3.1.1.3	Ensayo	27

2.3.1.2	Linealidad	28
2.3.1.3	Precisión de método	28
2.3.1.4	Precisión interna	28
2.3.1.5	Límite de detección	29
2.3.1.6	Límite de cuantificación	29
2.3.1.7	Exactitud	29
2.3.1.8	Precisión del equipo	30
2.3.1.9	Rango	30
2.3.2	Elementos requeridos de los datos para validación de método	30
2.3.2.1	Categoría I	30
2.3.2.2	Categoría II	31
2.3.2.3	Categoría III	31
2.3.2.4	Categoría IV	31
2.3.2.4.1	Prueba de identificación	31
2.4	Cromatografía	32
2.4.1	Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)	33
2.4.1.1	Componentes del sistema	34
2.5	Espectrometría	35
2.5.1	Componentes de los instrumentos	36
2.5.2	Fotómetros y espectrofotómetros de UV visible	37
3.	PROCEDIMIENTO	39
3.1	Descripción del proceso tecnológico de obtención de la crema antimicótica	39
3.2	Plan maestro de producción	39
3.2.1	Fase A (oleosa)	39
3.2.2	Fase B (acuosa)	40

3.2.3	Instrucciones para el llenado	41
4.	METODOLOGÍA	43
4.1	Procedimiento de validación	43
4.1.1	Principios para realizar el proceso de validación	43
4.1.1.1	Primer principio	43
4.1.1.2	Segundo principio	43
4.1.1.3	Tercer principio	43
4.1.2	Equipo a utilizar	44
4.1.3	Materiales	44
4.1.4	Pasos a seguir en el proceso de validación	45
4.1.4.1	Primer paso	45
4.1.4.2	Segundo paso	45
4.1.4.3	Tercer paso	46
4.1.4.4	Cuarto paso	46
4.1.4.5	Quinto paso	47
4.1.4.6	Sexto paso	47
4.2	Validación de método analítico	47
4.2.1	Equipo	47
4.2.2	Reactivos	48
4.2.3	Fase móvil	48
4.2.4	Solución buffer para solución estándar y muestra	48
4.2.5	Solución estándar	48
4.2.6	Solución muestra	49
4.3	Secuencia de análisis a utilizar en el equipo de cromatografía	49
4.3.1	Consideraciones generales	49
4.3.2	Procedimiento	50
4.3.2.1	Selectividad	50
4.3.2.2	Linealidad	51

4.3.2.2.1 Sustancia activa	51
4.3.2.3 Exactitud	51
4.3.2.3.1 Método de acumulación	51
4.3.2.4 Precisión del equipo	53
4.3.2.4.1 Sustancia activa	53
4.3.2.5 Precisión del método	53
4.3.2.5.1 Sustancia activa	53
4.3.2.5.2 Evaluación	54
4.3.2.6 Precisión interna del laboratorio	54
4.3.2.6.1 Sustancias activas	54
4.3.2.7 Sobre el resultado	54
4.3.2.7.1 Evaluación	55
4.4 Criterios utilizados en el procedimiento para la evaluación de parámetros	55
4.4.1 Selectividad	55
4.4.1.1 Muestra	55
4.4.1.2 Estándar	55
4.4.1.3 Filtros de nylon de 0.45 μm	55
4.4.1.4 Medio de dilución	56
4.4.2 Linealidad	56
4.4.3 Precisión de método	56
4.4.4 Precisión interna	57
4.4.5 Exactitud	57
4.4.6 Precisión de equipo	58
4.4.7 Rango	58

5. RESULTADOS	59
5.1 Sumario	59
5.2 Formulación	59
5.3 Producción de crema y empaque	60
5.4 Proceso de acondicionamiento	62
5.5 Características de la crema / resultados de control en proceso	62
5.5.1 Homogeneidad	63
5.5.2 Contenido de clotrimazol	63
5.5.3 Microbiología	64
5.6 Resultados método analítico	64
5.6.1 Puntos de evaluación elegidos	64
5.6.2 Selectividad	65
5.6.3 Exactitud	65
5.6.3.1 Método de placebo	65
5.6.3.2 Interpretación estadística	66
5.6.3.3 Conclusión	67
5.6.4 Precisión del método	67
5.6.4.1 Interpretación estadística	68
5.6.5 Precisión de equipo	68
5.6.5.1 Interpretación estadística	69
5.6.6 Linealidad	69
5.6.6.1 Interpretación estadística	70
5.6.6.2 Conclusión	71
5.6.7 Precisión interna del laboratorio	71
5.6.7.1 Interpretación estadística	72
5.6.8 Rango	72

CONCLUSIONES	75
RECOMENDACIONES	77
BIBLIOGRAFÍA	79

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

TABLAS

I	Típicas características analíticas usadas en la validación de método	26
II	Elementos de datos necesarios para validación de método	32
III	Criterios a tomar en cuenta	49
IV	Secuencia exactitud	52
V	Secuencia precisión de método	54
VI	Rango a analizar para linealidad del método	56
VII	Cantidad requeridas para análisis de exactitud	58
VIII	Clotrimazol crema	60
IX	Parámetros del proceso de formulación	61
X	Parámetros del proceso de sellado	61
XI	Desperdicios	61
XII	Consumo empaque primario	62
XIII	Rendimientos	62
XIV	Resultados de homogeneidad	63
XV	Contenido de clotrimazol	63
XVI	Resultados microbiológicos	64
XVII	Resultados de selectividad	65
XVIII	Estándar utilizado	65
XIX	Resultados análisis de exactitud	66
XX	Interpretación estadística de exactitud	66
XXI	Resultados de precisión de método	68
XXII	Resultados de precisión de equipo	69
XXIII	Resultados de linealidad	70
XXIV	Resultados de precisión interna del laboratorio	72
XXV	Resultados de rango	73

GLOSARIO

Analito

En química analítica un analito es el componente (elemento, compuesto o ión) de interés analítico de una muestra. La información analítica que se obtiene sobre el analito en la muestra puede ser cualitativa (si el analito está presente o no en una determinada concentración en la muestra), cuantitativa (la proporción en la que se encuentra) y estructural.

Base emulsionada

Solución en donde se logra mezclar fases acuosas con fases oleosas, y no hay una sedimentación o separación de los componentes de la misma.

Calidad de conformancia

Esto se refiere básicamente al grado en que el producto o servicio cumple con los estándares o normas establecidas de calidad.

En este concepto la frase de “hacer las cosas bien a la primera vez” queda perfectamente, ya que esta calidad de conformancia se enfoca a la manera de hacer las cosas; con los materiales correctos, maquinaria y equipo en buen estado, personal capacitado y motivado, etc.

Clotrimazol

El clotrimazol es un medicamento que se usa para tratar las infecciones por hongos en la vagina, la boca y la piel, como el pie de atleta (tiña podal), la tiña crural o inguinal y la tiña corporal. También puede usarse para prevenir la candidiasis oral en ciertos pacientes.

Compuestos céreos

Material hecho de cera o con las características específicas a la cera.

Crema antimicótica

Producto farmacéutico utilizado para el control y desaparición de hongos en distintas partes del cuerpo, para uso externo únicamente.

Fase acuosa

Fase en donde los materiales están disueltos en una solución que tiene como base agua.

Fase estacionaria

En la cromatografía líquida de alta resolución es un cilindro con pequeñas partículas redondeadas con ciertas características químicas en su superficie. Dependiendo de la naturaleza de la muestra a analizar ésta es introducida en pequeñas cantidades y sus componentes se retrasan diferencialmente dependiendo de las interacciones químicas o físicas con la fase estacionaria a medida que adelantan por la columna. El grado de retención de los componentes de la muestra depende de la naturaleza del compuesto, de la composición de la fase estacionaria y de la fase móvil.

Fase oleosa

Solución con apariencia aceitosa, muy poco miscible con la fase acuosa.

Flujo de producción

Diagrama de flujo donde se ve todas las inspecciones y operaciones donde una materia prima sufre una transformación para llegar a ser producto terminado, además

incluye todos los transportes y demoras que se dan en el proceso.

HPLC

La Cromatografía líquida de alta resolución o High performance liquid chromatography (HPLC) es un tipo de cromatografía en columna utilizada frecuentemente en bioquímica y química analítica. También se la denomina a veces Cromatografía líquida de alta presión o High pressure liquid chromatography (HPLC), aunque esta terminología se considera antigua y está en desuso. El HPLC es una técnica utilizada para separar los componentes de una mezcla basándose en diferentes tipos de interacciones químicas entre las sustancias analizadas y la columna cromatográfica.

Layout

Término inglés con que se conocen en diseño los bocetos o maquetas bien acabados que sirven para presentar proyectos.

Licuefacción

Proceso por el cual un gas pasa a estado líquido.

Mantenimiento preventivo

Consiste en la revisión periódica de ciertos aspectos, de equipos, maquinarias y sistemas de computo, para evitar un mal funcionamiento durante el proceso para el cual se utilizan.

Marmita

Una marmita es una olla de metal cubierta con una tapa que queda totalmente ajustada. Se utiliza generalmente a nivel industrial para procesar alimentos nutritivos, mermeladas, jaleas, chocolate, dulces y confites, carnes, bocadillos, salsas, etc. Además sirven en la industria química farmacéutica.

Microorganismos patógenos

Originan enfermedad en el ser vivo que parasitan o lo intoxican con sus toxinas.

Molino coloidal

Homogeniza al punto de formar una partícula muy pequeña, del orden del micrón, distribuyéndolas de manera uniforme. Subdivide la partícula de grasa o crema, dispersándola en un medio acuoso. Las mezclas basadas en cremas, obtienen un aspecto más brillante y consistente. Potencia

los agentes de batido, emulsiones para el cutis, jarabes, helados, mayonesa, salsas tipo ketchup, mostaza, etc. Ideal para la fabricación de diversos jugos de fruta, licuados, leches de soja.

Potencia de ingredientes activos

Es el grado de concentración o la cantidad de activo que contiene un medicamento.

RTCA

Reglamentos técnicos para Centroamérica, derivados del ente internacional ICH (International Conference on Harmonisation), que dictaminan los reglamentos para la región que regulan las especificaciones de la industria farmacéutica en general.

Soluto

Se llama soluto a la sustancia minoritaria (aunque existen excepciones) en una disolución o, en general, a la sustancia de interés. Lo más habitual es que se trate de un sólido que es contenido en una solución líquida (sin que se forme una segunda fase)

LISTA DE ABREVIATURAS

PAM	Prácticas adecuadas de Manufactura
HPLC	<i>High Performance Liquid Chromatography</i> (Cromatografía Líquida de Alta Resolución)
RTCA	Reglamentos técnicos para Centroamérica
OMS	Organización Mundial de la Salud

RESUMEN

Para cumplir con los requerimientos del mercado actual como la efectividad del propósito medicinal así como la legalidad sanitaria, es indispensable tener productos que durante su proceso de fabricación y análisis se mantengan dentro de los parámetros de control que aseguren la calidad del mismo; además de que permite mantener costos bajos de operación lo que se refleja en mayores ingresos y optimización de los tiempos de cuarentena del producto antes de que salga a la venta.

Por ello, se desarrollan las validaciones de proceso y análisis, que permiten documentar y controlar que todas las operaciones de equipos, personal, y proceso se mantengan dentro de las especificaciones que exigen las normas regulatorias y que llevan a tener productos de buena calidad.

En el siguiente informe se presentan los resultados que se obtuvieron, del análisis del proceso y el método de cuantificación que confirman que el producto cumple con los requerimientos que lo hacen apto para su uso, además que se puede utilizar como guía para la validación de otros procesos dentro de la rama farmacéutica.

OBJETIVOS

General

El presente documento tiene como objetivo describir de forma general todas las tareas y líneas maestras de actuación para abordar, realizar, dirigir, y completar, de forma documentada, la validación del proceso de fabricación de la crema antimicótica con Clotrimazol en el área de preparaciones de Líquidos y Semisólidos. Permitiendo establecer así la evidencia documentada que el proceso es confiable, reproducible y efectivo para la producción de esta forma farmacéutica.

Específicos

1. Presentar un procedimiento y técnica de fabricación apropiados que van a proporcionar resultados confiables de un sistema de control total de calidad en la crema antimicótica.
2. Proporcionar con la validación de método una herramienta para la verificación que es un proceso seguro de fabricación.

INTRODUCCIÓN

Dentro de la industria farmacéutica existe una serie de normativas que buscan garantizar la obtención de productos de calidad. Estas normativas son conocidas como las “Prácticas adecuadas de Manufactura” (PAM) o “Buenas Prácticas de Manufactura”, o por sus siglas en inglés GMP.

La OMS define a las GMP como “el área de garantía de calidad que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar a los productos, y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización”. Las GMP abarcan todos los aspectos involucrados directa o indirectamente en la fabricación de un producto en forma adecuada (producción, control de calidad, almacenamiento transporte, etc.), junto con el personal y equipos capacitados y calificados que participan en las distintas labores. También incluyen la documentación y registros de cada proceso, permitiendo rastrear la información en todas las etapas a un producto.

Dentro de las GMP se encuentran incluidas las “validaciones”, herramientas esenciales que permiten establecer que los distintos procesos y procedimientos están bajo control.

Validación se puede entender como el establecimiento de la evidencia documental de que un procedimiento conducirá, con un alto grado de seguridad, a la obtención de resultados precisos y exactos, dentro de las especificaciones y los atributos de calidad previamente establecidos.

De ahí radica la importancia de este trabajo, ya que permitirá dar a conocer los pasos necesarios de las validaciones de proceso y de la cuantificación del producto, y que herramientas estadísticas se utilizan para confirmar que el producto se encuentra dentro de los parámetros designados.

1. ANTECEDENTES

1.1 Buenas prácticas de manufactura de productos farmacéuticos (BPM)

Este es un código que rige el ensayo de sustancias químicas, con el fin de obtener datos acerca de sus propiedades y asegurar su inocuidad para el ser humano y para el medio ambiente. Difiere de la descripción de las prácticas adecuadas de laboratorio en los laboratorios de control gubernamentales, contenida en el Informe 32 del Comité de Expertos de la OMS sobre Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas (OMS, Serie de Informes Técnicos, No 748, 1987).

Dentro del concepto de garantía de la calidad, las Buenas Prácticas de Manufactura constituyen el factor que asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar a los productos, y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización. Las reglamentaciones que rigen las BPM tienen por objeto principal disminuir los riesgos inherentes a toda producción farmacéutica que no pueden prevenirse completamente mediante el control definitivo de los productos. Esencialmente, tales riesgos son de dos tipos: contaminación cruzada (en particular, por contaminantes imprevistos) y confusión (causada por la colocación de etiquetas equivocadas en los envases). El texto de las BPM exige:

- a) Que todos los procesos de fabricación se definan claramente, se revisen sistemáticamente a la luz de la experiencia, y se compruebe que son el medio de fabricar productos farmacéuticos que tengan la calidad adecuada para cumplir con las especificaciones.

- b) Que se comprueben las etapas críticas de los procesos de fabricación y todo cambio significativo que se haya introducido en dichos procesos.
- c) Que se disponga de todos los medios necesarios donde las BPM intervienen:
 - i) Producción
 - ii) Control de Calidad
 - iii) Instalaciones
 - iv) Equipos y servicios adecuados
 - v) Materiales
 - vi) Documentación
 - vii) Personal adecuadamente calificado y capacitado
 - viii) Autoinspecciones
 - ix) Almacenamiento
 - x) Reclamos
 - xi) Investigación de no conformidades
 - xii) Validación
- d) Que las instrucciones y procedimientos se redacten en un lenguaje claro e inequívoco, que sea específicamente aplicable a los medios de producción disponibles.
- e) Que los operadores estén capacitados para efectuar correctamente los procedimientos.
- f) Que se mantengan registros (en forma manual o por medio de aparatos de registro) durante la fabricación, para demostrar que todas las operaciones exigidas por los procedimientos e instrucciones definidas han sido en realidad efectuados y que la cantidad y calidad del producto son las previstas; cualquier desviación significativa debe registrarse e investigarse exhaustivamente.

- g) Que los registros referentes a la fabricación y distribución, los cuales permiten averiguar la historia completa de un lote, se mantengan de tal forma que sean completos y accesibles.
- h) Que el almacenamiento y distribución de los productos sean adecuados para reducir al mínimo cualquier riesgo de disminución de la calidad.
- i) Que se establezca un sistema que haga posible el retiro de cualquier producto, sea en la etapa de suministro o de venta.
- j) Que se estudie toda queja contra un producto ya comercializado, como también que se investiguen las causas de los defectos de calidad, y se adopten medidas apropiadas con respecto a los productos defectuosos para prevenir que los defectos se repitan.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Conceptos de validación

Históricamente, la calidad del producto era asegurada por la manufactura del producto, seguida de la evaluación de muestras de producto terminado tomadas al azar por el departamento de control de calidad.

El análisis de las materias primas, productos en proceso y componentes de empaque proveen garantía adicional de la calidad del producto terminado. Las visitas de inspección y la auditoria a los proveedores también son muy útiles. Sin embargo, sin el estudio y evaluación de las relaciones entre materias primas y su proceso de manufactura y de los productos resultantes, la calidad de los productos terminados no puede ser completamente asegurada.

Esto trae al concepto de validación del proceso total; desde las materias primas a los procesos de manufactura, a sistemas relacionados y un círculo completo hasta el análisis del producto terminado. Validación es el proceso de juntar todos estos aspectos; de conocer los límites de operación del proceso y de asegurar que ese proceso se mantiene dentro de esos límites; de saber que el proceso es efectivo. Esencialmente, validación es sentido común organizado y bien documentado. Validación es conocer tan bien como se pueda, la calidad de todas y cada una de las unidades producidas. Es calidad que se elabora en cada segmento del ciclo de producción; no se analiza o se inspecciona o se segrega.

La FDA define validación como:

“El establecimiento de evidencia documentada la cual provee un alto grado de garantía de que es un proceso específico que producirá consistentemente un producto que cumple con sus especificaciones y atributos de calidad predeterminados”.

La Asociación de Fabricantes de Productos Farmacéuticos de los Estados Unidos (PMA) define validación como:

“Establecimiento de evidencia documentada de que un proceso hace lo que implica que debe hacer”.

Existen muchas definiciones, sin embargo, los elementos claves, comunes a todas ellas son la determinación de lo que el proceso intenta hacer, el diseño de una serie de experimentos para demostrar que ese proceso cumple con las intenciones e igualmente importante, el documentar de que el trabajo fue hecho.

Existen dos formas básicas de validación de procesos:

Prospectiva

Retrospectiva

La validación prospectiva debe ser usada antes de producir un producto totalmente nuevo o cuando hay cambios en el proceso de manufactura que puedan afectar atributos básicos del producto tales como identidad o uniformidad.

La validación retrospectiva debe ser usada en aquellos casos en que el proceso ha sido usado, sin cambios, por un período y existen datos acumulados, suficientes y adecuados, disponibles para evaluar la efectividad del proceso. Como ejemplo de procesos que podrían ser validados retrospectivamente en forma exitosa se pueden

mencionar las operaciones de mezclado, secado, molienda, tableado, encapsulación y ciertas operaciones de llenado.

Existe un tercer tipo de enfoque de validación, el de la concurrente o como fue definida por la FDA “aceptabilidad de análisis de producto”, la cual debe ser usada para la manufactura de un lote único.

En diversas empresas están presentes estas tres, aunque en los países más avanzados, algunas han dejado de tener validez. En forma global y considerando antecedentes y nuevas perspectivas se puede entonces hablar de cinco tipos de validación. Las otras dos son:

- Validación esbelta
- Validación en tiempo real, mejor conocida como “Verificación continua de la calidad”.

2.1.1 Validación esbelta

Es el estudio que se lleva a cabo para demostrar y establecer una evidencia documentada de que un proceso hace lo que esta previsto basado en resultados que consideran en su estudio la identificación de atributos críticos de calidad.

La validación esbelta viene de la mano con toda la corriente “*lean*” (esbelto) que se ha manejado en los últimos tiempos. Se mencionan compras esbeltas, procesos y manufactura esbelta, almacenes esbeltos, entre otros. La validación no podía ser la excepción.

Este nuevo concepto considera los grandes errores que se han cometido al realizar la validación, en su parte más débil, la documentación del proceso.

Durante la interpretación de la validación, la industria pensó que tenía que contar con una evidencia documental exagerada para demostrar el cumplimiento. Se confundió el término “sólido” con “muchas páginas” y es común ver que la documentación relacionada con la validación es muy extensa y en ocasiones con pruebas y documentos que no se enfocan en la parte sustancial

Existían documentos que hacían referencia a pruebas sin un objetivo concreto, o con base a pruebas “no críticas” o de carácter “informativo”, lo cual en ocasiones causaba que la validación de procesos se hiciera muy tediosa y larga e incluso se llegaría a perder el interés en la misma. Considerando lo anterior, este concepto surge de la industria, con el objetivo de cumplir sin tener que salirse de los límites. Con las nuevas corrientes que enfatizan la calidad por diseño (*quality by design*) y la importancia del desarrollo farmacéutico, las empresas han vuelto sus ojos al origen del producto y a la identificación de aquellos factores que realmente afectan la calidad del mismo, denominándolos atributos críticos de calidad.

Estos atributos críticos de calidad sirven de base para el desarrollo de la validación, puesto que esta última se tiene que centrar en el control de dichos atributos para garantizar el cumplimiento de las especificaciones. Por tanto, es posible conjugar la validación prospectiva y/o concurrente con la validación esbelta.

2.1.2 La verificación continua de la calidad

Es el estudio que se lleva a cabo para demostrar y establecer una evidencia documentada de que un proceso hace lo que esta previsto basado en los resultados obtenidos lote a lote. Este concepto también de aplicación reciente, refleja hacia donde se tendrá que migrar tarde o temprano. Su fundamento tiene bastante lógica, basado en todos los problemas que tanto las empresas como las entidades sanitarias han reportado y que en ocasiones le han restado méritos al valor de la validación.

En resumen este tipo validación es:

- Trabajar bien SIEMPRE
- Ser consistente
- Cumplir con las especificaciones
- Es validar en tiempo real

Beneficios y Alcances:

- Rápida
- Bajo cultura lean
- Bajo enfoque de riesgo
- Permite formalizar
- Permite identificar restricciones
- Bajo los alcances de RAP (Revisiones Anuales de Producto)

2.2 Procedimiento de validación

2.2.1 Estructura básica

Revisión de procedimiento

Calibración

Calificación

Protocolo de validación

Documentación de validación

Revalidación

A continuación se describen cada una de estas actividades:

2.2.1.1 Revisión de procedimientos

Es necesaria la revisión y la actualización de:

- Procedimientos estándar de operación
- Procedimientos y manuales de operación y manejo de equipo
- Planos de instalación
- Procedimientos y programas de mantenimiento
- Procedimientos y programas de seguridad
- Procedimientos y programas de capacitación personal

2.2.1.2 Calibración

Es el método científico que se usa para demostrar la precisión, reproducibilidad y exactitud de cualquier instrumento de medición. Es la comparación de un estándar o instrumento de exactitud conocida con uno de menor exactitud para confirmar, determinar o eliminar, mediante un ajuste, cualquier variación en la exactitud del instrumento que es comparado.

2.2.1.2.1 Exactitud

Es el término que permite conocer la confiabilidad de una medición realizada de acuerdo con una metodología específica (la exactitud se corrige con la calibración).

2.2.1.2.2 Precisión

Es el término que permite conocer la confiabilidad y efectividad de una medición realizada de acuerdo al instrumento utilizado y sus características inherentes.

2.2.1.2.3 Contenido de un programa de calibración por pasos

Paso I

- Sistemas de numeración para identificar todos los instrumentos que necesitan ser calibrados.
- Archivo del historial del instrumento.
- Archivo recordatorio del calendario de nueva calibración.
- Certificado de calibración.
- Etiquetas de calibración.
- Órdenes de calibración.
- Cuaderno de datos sobre calibración

Paso II

- Contar con los manuales de procedimientos de operación

Paso III

- El programa de calibración deberá ser administrado por gerencia de aseguramiento de la calidad
- La calibración deberá ser de manera ordenada y continua
- La calibración deberá ser debidamente documentada

2.2.1.3 Calificación

Antes de validar cualquier proceso, debemos estar seguros que todo aquello que va a intervenir para su realización, está debidamente calificado.

La calificación es la demostración documentada de la capacidad de un equipo y/o sistema de operar consistentemente dentro de límites preestablecidos para un proceso. Calificar significa evaluar las cualidades o características de todo aquello que pueda afectar la CALIDAD DE CONFORMANCIA del producto, es decir: los materiales, los equipos, los sistemas e instalaciones, el personal y los procedimientos de operación, en base a exigencias establecidas previamente.

2.2.1.3.1 Calificación de instalaciones

Son aquellas pruebas que permiten establecer que el equipo de proceso y los sistemas auxiliares son capaces de operar consistentemente dentro de sus límites y tolerancias establecidas.

Se evalúan los pisos, las paredes, techo, ventanas, puertas, drenajes, instalaciones eléctricas, sistema de ventilación, sistema de colección de polvos, etc. Para calificar una instalación también se tiene que considerar las condiciones de seguridad del área, así como, realizar análisis microbiológicos.

2.2.1.3.2 Calificación de equipo

Son aquellas pruebas que permiten evaluar las cualidades o características del equipo y verificar que éstas cumplan con los requerimientos de la operación que se va a realizar en dicho equipo.

Se evalúa la funcionalidad del mismo, contando con los procedimientos de operación, así como, un programa de mantenimiento preventivo.

Pasos a seguir para calificar el equipo:

- Conocer el proceso a validar
- Seleccionar el equipo
- Identificar el equipo, a través de un listado donde se le asigne un código a cada uno de ellos
- Llenar un formato de información básica del equipo
- Determinar requerimientos de mantenimiento, calibración y ajuste
- Identificar partes críticas
- Establecer pruebas y criterios de aceptación
- Incluir la peor condición
- Identificar causas de falla
- Identificar partes de repuesto
- Documentar y evaluar

2.2.1.3.3 Calificación de personal

Son aquellas pruebas que permiten evaluar el comportamiento del personal y entrenarlo mediante un programa de adiestramiento. Las fases de un Programa de Adiestramiento son los siguientes:

- Orientación
 - Historia de la Empresa:
 - Puntos básicos de su filosofía como empresa
 - Sus instalaciones (pasado, presente y futuro)

- Los productos
 - Señalamiento sobre los tipos de productos fabricados y la línea líder de la empresa

- La responsabilidad de fabricar medicamentos

- La organización de la planta
 - Layout
 - Flujo de producción
 - Actividades conexas:
 - Control y aseguramiento de la calidad
 - Mantenimiento (Ingeniería)
 - Higiene y Seguridad
 - Desarrollo

- Prácticas adecuadas de Manufactura (PAM)
 - Historia y evolución
 - Regulación vigente
 - Filosofía de los PAM (Asociación de fabricantes de productos farmacéuticos de los Estados Unidos)

- Higiene y seguridad
 - Regulación al respecto
 - Las políticas de la empresa al respecto
 - Entrenamientos específicos

2.2.1.3.4 Entrenamiento departamental

- Orientación Departamental
- Normas y procedimientos generales
- Trabajo específico. Especificaciones y procedimientos involucrados
- Documentos relacionados

2.2.1.3.5 Entrenamiento anual

- Refrescar conceptos generales
- Reforzar aspectos específicos
- Actualizar con cambios e innovaciones

2.2.1.3.6 Documentación

- Todo el programa debe ser dividido para cada tipo de posición
- Cada trabajador debe tener un registro con el entrenamiento que ha recibido
- Debe evaluarse los resultados del entrenamiento de manera periódica, objetiva y cuantificable
- Debe contarse con reforzamientos específicos cuando las evaluaciones señalen su necesidad. Una buena documentación muestra:
 - La existencia de lo que se ha realizado y por qué
 - Especificaciones
 - Procedimientos de cada equipo y cada sistema
 - Métodos y procedimientos de operación de las pruebas de laboratorio y de las operaciones en línea
 - Control de los diagramas de Ingeniería

- Órdenes de trabajo de mantenimiento y servicio
- Pruebas de Ingeniería
- Los documentos deben:
 - Estar donde se les necesita
 - Usarse por quien debe
 - Usarse sin aplicar cambios que no estén autorizados
- Guía de documentación para la calificación de sistemas

2.2.1.3.7 Calificación de sistemas

- Equipo
 - Definición: tipo, marca, modelo, serie, historial, localización, capacidad, motor, material de fabricación
 - Dimensiones: capacidad máxima y mínima en volumen
 - Accesorios: definición, historial, material de fabricación
 - Características generales de funcionamiento (dirección de rotación)
 - Verificación de funcionamiento de acuerdo a diseño y a recomendación del fabricante (velocidad, presión, temperatura), criterio de aceptación
 - Calibración de sistemas de medición – criterio de aceptación – procedimiento por equipo (frecuencia)
 - Procedimiento de limpieza – criterios de aceptación –
 - Procedimientos de operación
- Instalaciones
 - Ubicación, historial

- Condiciones de temperatura y humedad ambiental (registros), criterios de aceptación
 - Servicios, agua, aire, extracción (procedimiento de uso y verificación), criterio de aceptación
 - Espacio, aislamiento, flujo y dirección de aire, flujo de materiales, flujo de personal
 - Control microbiológico ambiental
 - Métodos de colección de datos
- Materiales
 - Métodos de muestreo
 - Especificaciones de control –criterios de aceptación -, evaluación
 - Calidad del agua
 - Caracterización física
 - Control microbiológico
 - Funcionalidad
 - Procedimientos de manejo, almacenamiento y surtido (recipientes, integridad, sellado, etc.)
 - Diferentes lotes del mismo proveedor
 - Proveedor, historial, grado
 - Potencia de ingredientes activos
 - Personal
 - Entrenamiento –entendimiento-, evaluación
 - Procedimientos de comportamiento
 - Historial
 - Producto
 - Atributos y especificaciones – criterio de aceptación –

- Tamaño del lote
- Métodos de muestreo
- Método de fabricación, escala de producción
- Sistema de almacenamiento a granel
- Procedimiento de llenado

Un recurso valioso para calificar es la auditoria interna, en la que intervienen las áreas responsables de cada sección que se desea calificar.

Toda validación que se efectuó en condiciones distintas a las especificadas estará seriamente limitada y no permitirá controlar el proceso en el futuro, ni conocer las fuentes reales de posible variación, lo que es precisamente el fundamento de la validación de procesos.

2.2.1.4 Protocolo de validación

El protocolo de validación es un documento que delinea los pasos que debemos seguir para validar. Es un plan escrito que propone como se va a llevar a cabo la validación, e incluye los parámetros de análisis, las características del producto, el equipo de producción y los parámetros para decidir si los resultados de los análisis son aceptables.

El desarrollo de un protocolo de validación constituye el primer paso en cualquier proceso de validación. La importancia de este primer paso es absoluta, ya que es necesario el establecer por adelantado el programa, definiendo que es lo que se va a hacer, como se van a manejar los datos y cuales son los resultados esperados.

Los protocolos pueden tener muchas formas diferentes, pero todos deben contener esencialmente la misma información:

- El objetivo
- El propósito
- Características pertinentes de diseño del proceso o del equipo
- Procedimiento real a seguir durante la validación
- Descripción completa de cualquier prueba requerida
- Criterios de Aceptación
- Resultados esperados

Es muy deseable que los protocolos se desarrollen con una base multidisciplinaria de tal manera que representen diferentes perspectivas, todas enfocadas hacia la realización del objetivo final, el cual es el de operar dentro de un estado validado de control. Típicamente las disciplinas envueltas son ingeniería, manufactura y control de calidad, adicionalmente, mantenimiento, investigación y desarrollo, servicios técnicos y otras disciplinas claves pueden también participar y contribuir al estudio. También es deseable envolver al departamento de compras y al de procesamiento de datos en el caso de sistemas automatizados con computadoras.

2.2.1.4.1 El objetivo

Es un enunciado sobre lo que se trata de obtener con la validación, mostrando que un sistema está efectivamente controlando un proceso determinado dentro de los límites necesarios preestablecidos para la operación satisfactoria del sistema. Por ejemplo, para cumplir con requerimientos de proceso, un deionizador de agua debe producir cierto volumen de agua con cierta conductividad; debe ser regenerado a intervalos específicos y debe ser sanitizado periódicamente para reducir los niveles microbianos. El objetivo es el de asegurar que estos parámetros se cumplan.

2.2.1.4.2 El propósito

El propósito del proceso o equipo debe también incluirse en el objetivo del protocolo. El protocolo debe describir lo que el proceso hace y la manera en que es afectado por procesos anteriores y como a su vez afecta a procesos posteriores.

2.2.1.4.3 Características pertinentes de diseño del proceso o del equipo

Debe contener información específica cubriendo los procedimientos de operación normal, diseño, características, materiales de construcción y una serie completa de especificaciones o parámetros de operación: incluye velocidad de flujo, temperaturas, presiones y ciclos cuando sea aplicable. Estos deben incluir los límites de operación normales, máximos y mínimos, así como, también las consecuencias que se esperan cuando dichos límites se exceden. Las especificaciones deben incluir los requerimientos de calidad de las materias primas, el rendimiento de procesos o equipo y una anotación sobre como éstos están interrelacionados. Cuando sea necesario, también debe anotarse la energía, localización y requerimientos ambientales. Los requerimientos de mantenimiento deben ser detallados e incluir de ser posible las consecuencias que se esperan si dichos requerimientos no se cumplen. También se debe incluir una descripción completa de componentes desechables tales como filtros, y de sustitutos aceptables. Indudablemente, si un sistema nuevo va a ser validado, este aspecto de la validación requiere muchos pensamientos y revisiones por adelantado y debe ser decidido en la etapa de diseño del sistema.

2.2.1.4.4 Procedimiento real de la validación

Esta sección cubre los experimentos y pruebas a ser realizados, los cuales demostrarán que el proceso o equipo funciona de una manera satisfactoria y reproducible. Idealmente, esta sección debe estar construida en tal forma que provea prueba científicamente válida de que el sistema o equipo opera de la manera en que está supuesto a hacerlo. Una de las mejores maneras de realizar esto es subdividir el sistema en una serie de secciones menores, trabajables, las cuales tienen impacto sobre el sistema en total. De esta manera es más fácil determinar lo que es importante y lo que no es importante; cuales variables son dependientes y cuales son independientes y la determinación de cuáles son los sistemas, subsistemas o parámetros indicativos del funcionamiento correcto del sistema completo, proceso o equipo. De la misma manera que con el concepto de validación total, es muy importante que varios departamentos participen y aporten sus puntos de vista en esta etapa. Así tenemos que ingeniería, manufactura y control de calidad deben involucrarse en la tarea de decidir lo que es importante y lo que no lo es, cuáles segmentos son realmente críticos, que parámetros deben ser vigilados y en que orden deben completarse las varias etapas del proceso de validación.

La sección más importante del protocolo es el diseño experimental, si éste es incompleto o débil, la validez de los resultados puede ser cuestionable y por lo tanto compromete la validación entera. El procedimiento debe ser lógico y cada paso debe conducirse al tiempo apropiado. Por ejemplo, sería impropio calibrar el equipo al final de la validación, las calibraciones deben ser al principio de la validación y recomprobadas al final; si se omite un parámetro, función o proceso el cual es crítico, esto podría anular la validación entera.

La validación a trabajar será una de tipo concurrente debido a que es la que más comúnmente se utiliza en la actualidad, esto debido a que permite validar procesos

durante la producción de rutina; con lo que se trabajará la manufactura de 3 lotes, los cuales pueden ser liberados si cumplen con las especificaciones, se hará una estadística de los datos para realizar el informe de la validación.

2.2.1.4.5 Pruebas requeridas

Las pruebas requeridas pueden variar con cada sistema o proceso y dentro de razones científicas, deben ser únicamente limitadas por la validez de los resultados, obtenidos para soportar las conclusiones en que se basan dichos resultados.

De acuerdo a la RTCA (Informe 75, para Guatemala) los parámetros a evaluar en una crema son los siguientes:

- Llenado mínimo
- Identificación del principio Activo
- Concentración del principio Activo
- Límites Microbiológicos

Existen otros parámetros, pero para los intereses del proceso de fabricación sólo se tomarán en cuenta estos.

2.2.1.4.6 Criterios de aceptación

Estos son las especificaciones que deben ser cumplidas si el sistema o proceso está funcionando en forma adecuada para producir la calidad de producto deseada. Las pruebas experimentales y el procedimiento de validación se usan para verificar las condiciones reales de operación del proceso. Si éstas se encuentran dentro de las especificaciones previamente establecidas, entonces el criterio de aceptación se ha

cumplido y el proceso puede considerarse validado. Si los valores obtenidos no están dentro de las especificaciones se puede tomar varias acciones. El sistema o proceso puede ser físicamente modificado para producir el cambio deseado, los parámetros de operación pueden ser ajustados o los criterios de aceptación o especificaciones de proceso pueden ser cambiados de tal manera de que los resultados de la validación caigan dentro del criterio de aceptación modificado.

Las especificaciones a considerar para aceptar si el proceso es válido o no son las enunciadas a continuación:

- Homogeneidad
- Concentración del Activo
- Temperaturas del Proceso de Fabricación

2.2.1.4.7 No conformidades

Si el protocolo fue diseñado en forma apropiada, la probabilidad de que esta situación ocurra, es remota y cuando ocurre es muy probable que se deba a una omisión o uso de datos equivocados en alguna fase del proceso o sistema. Esto quiere decir que es muy importante que el protocolo, las pruebas, los resultados y los criterios de aceptación sean minuciosamente revisados antes de hacer alguna decisión concerniente a acciones a ser tomadas para resolver el problema en el caso de no cumplir con el criterio o los criterios de aceptación.

El plan de acción correctiva debe prepararse únicamente después de descubrir la causa del fallo. En ocasiones, puede ser necesario repetir la validación, pero en todo caso la causa o causas que produjeron el fallo original deben ser suficientemente documentadas. Esto sirve para prevenir la repetición de situaciones similares en el

futuro y también proveen justificación para aceptar parte de los datos del protocolo original cuando esto sea posible. En la práctica, es muy útil consultar con la función de investigación y desarrollo quienes pueden aportar ayuda valiosa en estos casos.

Para el caso del proceso de fabricación de la crema antimicótica se puede trabajar en base a un procedimiento previamente elaborado que abarque los pasos a tomar en el caso de encontrar un dato fuera de especificación, tales como:

- Producto con apariencia no homogénea, revisar los registros de control y determinar si requieren de un reproceso.
- Concentración del producto no está dentro de las especificaciones, abrir un documento de no conformidades donde se registre cada una de las actividades que permitieron la fabricación del producto; además de los pasos realizados para analizar el producto, revisión de registros de equipo si hubieran fallas, registros de materiales utilizados para corroborar si eran los adecuados, y con ello dictaminar si aplica rechazo del producto, reproceso o aprobación del mismo.

Para resumir, el protocolo de validación es un documento que describe lo que se intenta lograr con el proceso y de que manera, que equipo de proceso debe ser utilizado, el diseño y la construcción de ese equipo, las pruebas requeridas para demostrar que el equipo y proceso funcionaron apropiadamente y los criterios de aceptación que deben cumplirse.

2.2.1.5 Documentación de validación

La documentación de la validación debe incluir el protocolo de validación, todos y cada uno de los procedimientos a los cuales se hace referencia, procedimientos de operación estándar, y especificaciones, los resultados obtenidos y recolectados durante la validación, resúmenes de datos resultantes para evaluaciones estadísticas, todos los

resultados de evaluaciones realizados por control de calidad, ingeniería, manufactura, mantenimiento y desarrollo de proceso y finalmente, una revisión y certificación firmada por cada uno de los departamentos y/o individuos responsables de que todos los criterios de aceptación se han cumplido y la validación es completa.

2.2.1.5.1 Control de cambios

La documentación de validación es un registro completo de la validación, el cual de ser necesario, puede ser usado para recrear la validación original en el futuro y determinar si han sucedido algunos cambios con el tiempo. También puede ser usado como prueba de que un proceso, sistema o equipo ha sido validado y es apropiado para su uso. Puede establecer y probar efectividad y puede ser usado como base para programas de revalidación a intervalos periódicos.

Por ello es necesario llevar un registro de cualquier cambio que se haya suscitado a lo largo del proceso realizado a lo largo de un tiempo estipulado, es decir, definido por el programa de revalidación del proceso, y poder observar que cambios se hicieron y su influencia en las características del producto final.

2.2.1.6 Revalidación

Al completar la validación tenemos la garantía de que el sistema, proceso o equipo está funcionando de una manera aceptable y reproducible y se puede asegurar de que cualquier lote de producto producido de la misma manera cumplirá con todas las especificaciones y será consistente con lotes producidos antes y después. Desafortunadamente, aún no se puede olvidar todo, ya que los ajustes de instrumentos de medida pueden cambiar, los equipos se desgastan, los procedimientos se modifican y las personas tienen tendencia a volverse complacientes. Cuando haya cualquier tipo de

cambio en el proceso o en el equipo que impacte el proceso de validación ya efectuado, entonces hay que Revalidar.

2.3 Validación de método

La validación de un método analítico es el proceso, a través del cual se establece, por medio de estudios de laboratorio, que las características desarrolladas por el método cumplan los requerimientos de la aplicación analítica en cuestión (USP XXV).

El desarrollo analítico característico que puede considerarse es el enlistado en la tabla I. De acuerdo a algunas opiniones, éste puede diferir con respecto a la terminología y uso. Cada característica desarrollada es definida como una delineación típica de procedimientos que pueden ser medidos.

Tabla I Típicas características analíticas usadas en la validación de método

Selectividad
Linealidad
Precisión del Método
Precisión Interna
Límites de Detección
Límites de Cuantificación
Exactitud
Precisión del Equipo
Rango

2.3.1 Características de desarrollo analítico

2.3.1.1 Selectividad

Es la habilidad de asegurar inequívocamente la presencia del analito (activo) y sus componentes, ya sea impurezas, productos de degradación y la matriz de componentes. Para los métodos de ensayo, la selectividad enuncia las siguientes implicaciones:

2.3.1.1.1 Prueba de identificación

Asegura la identidad del analito.

2.3.1.1.2 Prueba de pureza

Permite que todo procedimiento analítico desarrollado pueda obtener el contenido de impurezas de un analito. (Por ejemplo, sustancias relacionadas, límite de metales pesados, límite de impurezas orgánicas volátiles, etc.).

2.3.1.1.3 Ensayo

Provee un resultado exacto, el cual permite detectar el contenido o potencia del analito en una muestra.

2.3.1.2 Linealidad

La linealidad de un método analítico es su habilidad de obtener resultados de la prueba que son directamente proporcionales, o de una bien definida transformación matemática, proporcionales a la concentración del analito en muestras dentro del rango dado.

2.3.1.3 Precisión de método

La precisión de un método analítico es el grado de concordancia entre los resultados individuales de la prueba cuando el método es aplicado repetidamente a múltiples muestreos de una muestra homogénea. Puede ser definida como la desviación estándar o la desviación estándar relativa (coeficiente de variación) de una serie de mediciones. Puede ser una medida del grado de reproducibilidad o de repetibilidad del método analítico bajo condiciones normales de trabajo.

2.3.1.4 Precisión interna

Es el grado de reproducibilidad de los resultados de la prueba obtenidos por el análisis de las mismas muestras bajo una variedad de condiciones, tales como laboratorios diferentes, analistas diferentes, instrumentos diferentes, diferentes lotes de reactivos, diferentes tiempos transcurridos de ensayo, diferentes temperaturas de ensayo, diferentes días, etc. Esta es normalmente expresada como la ausencia de influencia sobre los resultados de la prueba de las variables de operación y medio dentro del cual se trabaja el método de análisis. Precisión interna es una medida de reproducibilidad de los resultados de la prueba bajo la variación en condiciones normales esperadas de laboratorio a laboratorio y de analista a analista.

2.3.1.5 Límite de detección

Esta es una característica de las pruebas límite. Es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser detectado, pero no necesariamente cuantificado, bajo las condiciones experimentales ordinarias. Esto es simplemente obtener el límite en que la cantidad de analito esta arriba o debajo de cierto nivel. El límite de detección es usualmente expresado como concentración de analito en la muestra.

2.3.1.6 Límite de cuantificación

Es una característica de los ensayos cuantitativos para niveles bajos de componentes en matrices de muestra, tal como impurezas en sustancias *bulk* (a granel) y productos de degradación en fármacos terminados. Es la cantidad mínima de analito en una muestra que puede ser determinado con precisión aceptable y exactitud bajo condiciones experimentales estables. También el límite es expresado en concentración de analito en la muestra.

2.3.1.7 Exactitud

La exactitud de un método analítico es la cercanía a un valor verdadero de los resultados de la prueba obtenidos por el método. La exactitud de un método analítico puede ser establecido a través de su rango.

2.3.1.8 Precisión del equipo

La precisión del equipo es una medida de su capacidad para mantener sin efecto por pequeñas pero deliberadas variaciones en los parámetros del método y proveer una indicación de su seguridad durante el uso normal del mismo.

2.3.1.9 Rango

Es el intervalo entre los niveles altos y bajos de analito (incluidos estos niveles) donde ha sido demostrado que se determina con un nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad lo usado en el método tal como se escribió. El rango de ensayo para un producto farmacéutico, según la Farmacopeia Estadounidense es de 80% a 120% de la concentración de la prueba.

2.3.2 Elementos requeridos de los datos para validación de método

Considerando la variedad de ensayos, es lógico que diferentes métodos de ensayo requieran diferentes esquemas de validación. Estos esquemas son como siguen:

2.3.2.1 Categoría I

Métodos analíticos para la cuantificación del componente principal de sustancias a granel o ingredientes activos (incluyendo preservativos) en producto terminado.

2.3.2.2 Categoría II

Métodos analíticos para la determinación de impurezas en sustancias a granel o componentes de degradación en producto terminado. Estos métodos incluyen ensayos cuantitativos y prueba límite.

2.3.2.3 Categoría III

Métodos analíticos para la determinación de características de desenvolvimiento (esto es disolución, liberación del activo).

2.3.2.4 Categoría IV

2.3.2.4.1 Prueba de identificación

Para cada categoría de ensayo, se necesita diferente información analítica, para ello ver tabla II:

Tabla II Elementos de datos necesarios para validación de método

Ensayo Categoría II					
Características de Desarrollo Analítico	Ensayo Categoría I	Cuantitativo	Pruebas Límite	Ensayo Categoría III	Ensayo Categoría IV
Exactitud	Si	Si	*	*	No
Precisión	Si	Si	No	Si	No
Especificidad	Si	Si	Si	*	Si
Límite de Detección	No	No	Si	*	No
Límite de Cuantificación	No	Si	No	*	No
Linealidad	Si	Si	No	*	No
Rango	Si	Si	*	*	No

* Puede requerirse, dependiendo de la naturaleza de la prueba específica.

2.4 Cromatografía

(USP, 2004) La cromatografía es un conjunto de técnicas de separación. Mezclas complejas se separan en sus componentes individuales por diferencias de distribución entre 2 fases:

- a. La fase móvil
- b. La fase estacionaria

La fase móvil puede ser:

- a. Un gas, en cuyo caso se trata de cromatografía de gases.
- b. Un líquido, en cuyo caso tenemos cromatografía líquida.

A su vez, la cromatografía líquida se divide en:

- a. Cromatografía en columna
- b. Cromatografía de superficie: de capa fina y de papel.

La cromatografía en columna admite cinco tipos principales que incluyen:

- a. Cromatografía líquido-sólido o cromatografía de absorción.
- b. Cromatografía líquido-líquido o cromatografía de partición.
- c. Cromatografía de enlace químico
- d. Cromatografía de intercambio
- e. Cromatografía de exclusión.

De esta última, se conocen dos modalidades:

- a. Cromatografía de permeación en gel
- b. Cromatografía de filtración en gel

2.4.1 Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC)

La cromatografía líquida de alta resolución (HPLC) es una técnica usada para separar componentes de una mezcla química.

Estos componentes (o solutos) son primeramente disueltos en un solvente líquido y luego forzados a fluir a través de una columna cromatográfica bajo alta presión.

En esta columna, la mezcla es separada en sus componentes. La cantidad de resolución es importante y es dependiente de la extensión de la interacción entre los componentes del soluto y la fase estacionaria.

La fase estacionaria está definida como un material de empaque inmóvil en la columna. La parte en movimiento del sistema es la fase móvil, la cual es un líquido. La interacción de el soluto con las fases móvil y estacionaria puede ser manipulada a través de diferentes solventes y columnas. Como resultado de esto, la cromatografía líquida de alta resolución adquiere alto grado de versatilidad no encontrado en otros sistemas cromatográficos. De esta forma, la técnica HPLC tiene la capacidad de separar fácilmente una amplia variedad de mezclas químicas.

2.4.1.1 Componentes del sistema

En la instrumentación de la cromatografía líquida, se necesita una bomba de alta presión para empujar el solvente, a través de una válvula de inyección, lugar donde se introduce la muestra, luego pasa a través de una corta y estrecha columna de acero inoxidable rellena compactamente con partículas pequeñas.

El solvente y los componentes separados de la muestra pasan a través de un detector en donde se mide su concentración. La señal del detector se traslada a un registrador que imprime el cromatograma, el cual consiste en una serie de picos, cada uno de los cuales representa un componente de la mezcla original.

Las principales diferencias entre la técnica HPLC y la cromatografía en columna son:

La técnica HPLC utiliza bombas de alta presión, columnas cortas y estrechas empacadas con partículas pequeñas y un detector, el cual registra continuamente la concentración de los componentes. Estas circunstancias determinan las ventajas de la instrumentación HPLC.

Antes de inyectar la muestra, el solvente es bombeado del reservorio a través del inyector, columna, detector, hasta obtener una línea base recta.

Luego, se inyecta la muestra y el solvente o la fase móvil la lleva a la columna. Esta retendrá más tiempo algunos componentes que otros. Eventualmente, cada uno de ellos pasara al detector, diluido en el solvente.

Los picos impresos en el cromatograma corresponden a cada uno de los compuestos separados en la columna.

La temperatura de la columna cromatográfica debe mantenerse constante.

2.5 Espectrometría

Durante mucho tiempo, los químicos han utilizado el color como ayuda para la identificación de sustancias químicas. La espectrometría se puede considerar como la extensión de la inspección visual en donde un estudio mas detallado de la absorción de energía radiante por las especies químicas permite una mayor precisión en su caracterización y en su cuantificación. Al reemplazar el ojo humano con otros detectores de radiación, se pueden realizar los experimentos espectrométricos en forma selectiva.

El término espectrometría sugiere la medición de la cantidad de energía radiante que absorbe un sistema químico en función de una longitud de onda de radiación, así como las mediciones por separado a una longitud de onda determinada.

Un espectrofotómetro es un instrumento para medir absorbancia o transmitancia de una muestra en función de una longitud de onda determinada. La mayor parte de la espectrometría utiliza soluciones y por esta razón la mayoría de recipientes para la muestra son celdas para colocar líquidos en el haz del espectrofotómetro.

La celda debe transmitir la energía radiante en la región espectral de interés; las celdas típicas para la región visible y ultravioleta tienen 1 cm de paso de luz.

2.5.1 Componentes de los instrumentos

(Skoog, 2001) La mayoría de instrumentos espectroscópicos de las regiones UV-visible e IR incluyen cinco componentes:

- a. Una fuente estable de energía radiante
- b. Un selector de longitud de onda que aísla una región limitada del espectro para hacer la medición
- c. Uno o más recipientes para la muestra
- d. Un detector de radiación, que convierte la energía radiante en una señal eléctrica que puede medirse
- e. Un sistema que procesa y lee la señal que consta, actualmente, de una computadora

Las dos primeras configuraciones de los instrumentos, que se utilizan para absorción y fluorescencia, necesitan una fuente externa de radiación. En la absorción se mide la disminución de la fuente de radiación a una longitud de onda seleccionada.

En la fluorescencia la fuente excita al analito, lo que origina la emisión de una radiación característica, que por lo general se mide a un ángulo de 90 grados con respecto a la fuente del rayo de incidencia. En la espectroscopia de emisión, la muestra por sí misma es el emisor y no se necesita una fuente externa de radiación. En los métodos de emisión, por lo general la muestra se introduce en un plasma o una flama que proporciona suficiente energía térmica al analito para hacer que éste emita una radiación característica.

2.5.2 Fotómetros y espectrofotómetros de UV-visible

Algunos términos comunes se usan para describir los instrumentos completos. Así, un espectrómetro es un instrumento espectroscópico que emplea un monocromador o un policromador junto con un transductor, para transformar la intensidad de la radiación en señales eléctricas. Los espectrofotómetros son espectrómetros que permiten hacer mediciones de la relación entre la radiación de dos rayos, que es el requisito para medir la absorbancia (recuérdese, $A = \log P_0/P = \log P_{\text{disolvente}}/P_{\text{solución}}$). Los fotómetros emplean un filtro para seleccionar la longitud de onda, conjuntamente con un transductor de radiación adecuado. En el espectrofotómetro se tiene la gran ventaja de que puede variarse continuamente la longitud de onda, haciendo posible el registro del espectro de absorción. Los fotómetros tienen como ventaja su sencillez, resistencia y bajo costo. Comercialmente se pueden encontrar varias docenas de modelos de espectrofotómetros. La mayoría de los espectrofotómetros abarcan las regiones UV-visible y ocasionalmente la región del infrarrojo cercano, mientras que los fotómetros por lo general se utilizan para región visible.

Los fotómetros tienen una gran utilidad como detectores en cromatografía, electroforesis, inmunoensayos o análisis de flujo continuo. Tanto los fotómetros como los espectrofotómetros pueden ser de haz sencillo o de doble haz.

Además, ahora se cuenta con instrumentos de canales múltiples, con estos sistemas se puede obtener un espectro completo en cada ocasión.

Como la energía radiante que se obtiene en las fuentes UV-visible es función de la longitud de onda, los instrumentos de haz sencillo comúnmente miden $P_{\text{disolvente}}$ y $P_{\text{solución}}$ a cada longitud de onda. De manera alternativa, los instrumentos actuales, que utilizan computadoras, pueden hacer y almacenar el espectro completo de un disolvente, para posteriores cálculos de absorbancia.

3. PROCEDIMIENTO

3.1 Descripción del proceso tecnológico de obtención de la crema antimicótica

La crema antimicótica es un semisólido de base emulsionada aceite en agua. El método de fusión es el empleado en la preparación de esta crema, para lograr la licuefacción de los componentes sólidos o cerosos. Los componentes de la fase oleosa son calentados hasta una temperatura aproximada de 65°C, garantizando que los mismos estén licuados y uniformes luego de un tiempo de agitación y a una temperatura de 50°C. Simultáneamente en otro recipiente es calentada la fase acuosa con el resto de los excipientes solubles en agua, hasta una temperatura de 50°C. En estas condiciones se añade una fase a la otra, la interna sobre la externa, lentamente y con constante agitación.

Después de mezclados debidamente todos los componentes se debe refinar el preparado, haciendo pasar la crema por un molino coloidal adecuado, que permita eliminar todo resto de grumos, granulosis o arenosis perceptible.

3.2 Plan maestro de producción

3.2.1 Fase A (oleosa)

- En una Marmita agregar:

EMULGADE CBN 24.600 Kg

- Fundir a aproximadamente 60°C. Se registra la temperatura.

- Agregar lentamente a la Marmita
ALCOHOL CETILICO USP 4.492 Kg
- Agitar hasta disolver y agregar lentamente
METILPARABEN USP 250.00 G
PROPILPARABEN USP 250.00 G
- Agitar hasta disolver.
- Agregar poco a poco:
CLOTRIMAZOL USP (INCLUIR 5% EXCESO) 1.049 Kg
- Mezclar con agitación vigorosa manteniendo una temperatura de 50 +/- 5°C por 15 minutos aproximadamente o hasta disolver por completo el clotrimazol. Registrar temperatura y analizar la apariencia.

3.2.2 Fase B (acuosa)

- En una olla de acero inoxidable de 25 lts. de capacidad agregar:
AGUA PURIFICADA 69.360 L
- Calentar a la temperatura de 50 ± 5°C (la misma de la fase Oleosa). Registrar la temperatura.
- Agregar la fase Acuosa a la mezcla de la fase Oleosa en la Marmita de 100 L eliminando la fuente de calor. Debe estar a la misma temperatura de la fase oleosa 50 ± 5°C.
- Agitar vigorosamente por 15 minutos o hasta obtener una crema homogénea y uniforme.
- Cambiar la dirección de agitación, hacia ambos lados (atrás y adelante). Registrar el tiempo de agitación.
- Conectar el homogenizador por 10 minutos o hasta obtener la consistencia deseada. Registrar los tiempos de homogenización.
- Muestra revisada y aprobada por supervisor de área.

- Muestra tomada (2 muestras) para análisis en control de calidad de homogeneidad.

3.2.3 Instrucciones para el llenado

- Todo el equipo a usar debe estar limpio e identificado.
- Los tubos colapsables a utilizar deben de estar limpios previo al llenado, sopleteados.
- Llenar 5000 tubos con 20 g de Producto, en tubos de capacidad de 20 g impresos.
- Sellar el extremo abierto a cada tubo.
- Empacar los tubos en cartones corrugados con separadores en forma de panal incluidos.
- Identificar los cartones con cupones de Identificación.
- Tomar 6 muestras, 2 al inicio, 2 al medio y 2 al final del proceso de llenado, para el análisis de pureza y microbiología.

4. METODOLOGÍA

El procedimiento a seguir es el siguiente:

4.1 Procedimiento de validación

4.1.1 Principios para realizar el proceso de validación

4.1.1.1 Primer principio

Diseñar el protocolo “Qué hacer” y “Cómo hacer”.

Los lotes de prueba deben incluir los más severos retos al sistema.

El programa de validación debe llevarse a cabo en la fase de desarrollo del producto.

4.1.1.2 Segundo principio

Establecer la variación de los parámetros del proceso que puede permitirse para la realización de cada prueba individual.

Identificar la variación de las especificaciones que podrían causar la falla de un lote.

4.1.1.3 Tercer principio

Las pruebas finales al producto terminado no son suficientes para asegurar la calidad del producto.

4.1.2 Equipo a utilizar

- Fase Oleosa:
 - Marmita con varias llaves par el control del agua caliente y fría con línea de aforo y control de temperatura hasta un límite de 70°C y un agitador con motor eléctrico
 - Termómetro de acero inoxidable

- Fase Acuosa:
 - Homogenizador tubo que gira con unos hoyitos con motor
 - Marmita utilizada en fase oleosa
 - Termómetro de acero inoxidable

- Proceso de llenado:
 - Maquina llenadora con tolva de dosificación, disco giratorio con espacio para colocar tubos controlando la cantidad de llenado y las revoluciones por minuto a las cuales gira el disco para llenar cada uno de los tubos.

4.1.3 Materiales

- Clotrimazol grado USP
- Alcohol Cetílico grado USP
- Emulgade CBN
- Propilparabeno grado USP
- Metilparabeno grado USP
- Agua purificada grado USP

4.1.4 Pasos a seguir en el proceso de validación

4.1.4.1 Primer paso

- Verificar que la operación básica esté bajo control.
- Deben ser sistemas y procedimientos para asegurar el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Manufactura (GMP's).
- Deben incluirse áreas como la recepción de materias primas, programas de estabilidad, limpieza, mantenimiento, calibración y calificación de personal.
- En este inciso se revisarán los siguientes elementos del proceso de fabricación:
 - Limpieza del Área y equipo a utilizar.
 - Preparar maquinaria, calibrarla y ajustarla.
 - Recibir Material y verificar que el pedido de materiales esté completo.
 - Un supervisor aprobará la limpieza de líneas.

4.1.4.2 Segundo paso

- Establecer características medibles que describan el producto. Algunas características típicas del producto son:
 - Físicas: tamaño, color, forma, pH, análisis térmico, gravedad específica, etc.
 - Químicas: potencia y pureza de activos y productos de degradación.
 - Microbiológicas: límites, esterilidad.
 - De actuación: tiempos de disolución.

Para este proceso, por ser productos semisólidos las características a medir serán:

- Apariencia (homogeneidad) determinada en una caja de Petri
- Pureza determinada por cromatografía líquida de alta resolución

- Temp. en la fase acuosa y en la fase oleosa, críticas durante el proceso de fabricación

4.1.4.3 Tercer paso

- Pruebas en proceso y producto terminado.
- Un elemento vital en el proceso de validación, es establecer suficientes controles de proceso y con la frecuencia apropiada para asegurar que cada parámetro permanece bajo control y dentro de las especificaciones establecidas.
 - Al hacer la preparación del producto y mezclarlo se tomarán muestras del mismo según la regla:
 No. de muestras = $\sqrt{n} + 1$ (Ecuación 1)
 Para los lotes de 50 Kg esto significa que se tomarán 8 muestras de éstos para hacer los análisis correspondientes, mencionados en el inciso anterior.
 - Se trabajará bajo la norma de ± 3 veces la desviación estándar de la especificación para poder determinar si todos los resultados se encuentran bajo control.

4.1.4.4 Cuarto paso

- Establecer un procedimiento de manufactura, ver el inciso 3.2
- Un protocolo de validación debe incluir todos los parámetros que se quieren controlar, en este caso estos parámetros serán:
 - Temperaturas
 - Homogenización
 - Rendimiento de llenado y acondicionamiento
 - Pureza

4.1.4.5 Quinto paso

- La necesidad de revalidación debe ser evaluada antes de que un cambio mayor sea hecho en un proceso ya validado.

4.1.4.6 Sexto paso

- Este paso incluye todo lo antes mencionado e involucra una documentación precisa de todas las etapas de validación y manufactura posteriores.

4.2 Validación de método analítico

4.2.1 Equipo

1. Cromatógrafo Líquido de Alta Resolución, con horno para columnas, con detector de longitud de onda variable, integrador y registrador.
2. Balanza Analítica Electrónica
3. Agitador magnético con estufa.
4. Filtros de membrana de nylon de 0.45 μm de porosidad para filtrado de estándares y muestras.
5. Jeringa de 10 ml con adaptador para filtrar.

4.2.2 Reactivos

- a. Ácido Fosfórico 85%, Suprapure
- b. Trietilamina

4.2.3 Fase móvil

Diluir 2 mL de Ácido Fosfórico a 100mL con Agua y ajustan el pH a 6.6 con Trietilamina. Preparar dos fases con la siguiente proporción:

Fase A: 80:20 Acetonitrilo/Buffer

Fase B: 20:80 Acetonitrilo/Buffer

4.2.4 Solución buffer para solución estándar y muestra

Diluir 2 mL de Ácido Fosfórico a 100mL con Agua y ajustan el pH a 6.6 con Trietilamina.

4.2.5 Solución estándar

En un balón volumétrico de 50 ml, pesar cuantitativamente 50 mg de Estándar de Clotrimazol. Disolver con 20 ml de Acetonitrilo. Llevar a volumen con buffer y homogenizar con agitación.

4.2.6 Solución muestra

Pesar 250 mg de crema en un balón volumétrico de 50 ml. Agregar 20 ml de Acetonitrilo y calentar a 60°C con agitación constante durante 15 minutos. Enfriar y llevar a volumen con buffer. Homogenizar y filtrar con filtros de nylon de 0.45 µm.

4.3 Secuencia de análisis a utilizar en el equipo de cromatografía

4.3.1 Consideraciones generales

El alcance de la validación debe adecuarse al área de aplicación del método. Se tomará como guía la siguiente tabla:

Tabla III Criterios a tomar en cuenta

CRITERIO	Sustancia activa	Productos secundarios y de degradación
Selectividad	Si	Si
Linealidad	Si	Si
Rango de trabajo	Si	Si
Precisión: Precisión del equipo	Si	Si
Repetibilidad del método (Precisión del método)	Si	Si
Precisión interna del laboratorio	Si	Si
Exactitud	Si	Si
Limite de detección (LOD)	No (1)	Si
Limite de cuantificación (LOQ)	No (1)	Si
Robustez	Si	Si

- (1) Necesario, cuando se calculan productos secundarios y de degradación no disponiendo de estándares de referencia de los mismos. En ese caso se realiza la determinación de factores de respuesta del ingrediente activo.

Cualquier desviación de este esquema debe ser justificada.

4.3.2 Procedimiento

Debe existir un procedimiento escrito para el método analítico antes de empezar la validación.

4.3.2.1 Selectividad

Preparar muestras según inciso 4.2.4 y realizar cromatogramas de:

- Placebo (materia prima)
- Ingrediente(s) Activo(s)

Evaluar la pureza del pico del (de los) analito(s). El pico debe ser puro.

Ninguno de los componentes individuales interfiere con los otros en el cromatograma y los parámetros cromatográficos especificados en el procedimiento a validar cumplen (los picos están suficientemente separados).

Generar un cromatograma de muestra. En este deben apreciarse todos los analitos en el rango de concentración de la especificación de liberación.

Generar uno o más cromatogramas con todos los analitos a ser validados, con asignación de picos y, si es necesario, datos de concentración.

Reportar los tiempos de retención o tiempos de retención relativos.

4.3.2.2 Linealidad

4.3.2.2.1 Sustancia activa

Se preparan 5 soluciones a los niveles de 50%, 75%, 100%, 125% y 150% de la concentración objetivo del procedimiento de análisis (inciso 4.2.4).

Las soluciones individuales se inyectan 2 veces para obtener cromatogramas.

Se calcula una recta de regresión por medio de regresión lineal a partir de los 10 valores individuales.

Se documenta la representación gráfica de los valores de medición con la recta de regresión y los resultados de la evaluación estadística.

El coeficiente de correlación mínimo debe ser $R \geq 0.995$

El intercepto de eje relativo permitido es $f \leq 0.03$

4.3.2.3 Exactitud

4.3.2.3.1 Método de acumulación

Utilizar cuando no todos los componentes del producto pueden ser adquiridos en forma individual.

A una muestra se agrega sustancia activa a los niveles de concentración de: 100% (sin agregar nada), 125% (adición de 25%), 150% (adición de 50%) de las concentraciones de ingrediente activo declaradas. Para cada nivel se preparan 3 soluciones y se realizan cromatogramas según la siguiente secuencia:

Tabla IV Secuencia Exactitud

Estándar 1	Estándar 2	Estándar 3
Muestra 1 – 50%	Muestra 2 – 50%	Muestra 3 – 50%
Muestra 1 – 100%	Muestra 2 – 100%	Muestra 3 – 100%
Muestra 1 – 150%	Muestra 2 – 150%	Muestra 3 – 150%

Se determina el factor de respuesta de los estándares y se calcula la concentración de las soluciones. El porcentaje de recuperación se calcula dividiendo el valor de la concentración determinado (mg/mL) entre el valor de la concentración nominal.

Se grafica la concentración nominal contra la determinada y se reportan los porcentajes de recuperación determinados.

El rango desde el límite de confianza inferior (95% de seguridad estadística) del valor promedio de la recuperación porcentual debe incluir 100%.

4.3.2.4 Precisión del equipo

4.3.2.4.1 Sustancia activa

La precisión del equipo se realiza por medio de inyección múltiple de la misma solución ($n \geq 6$) bajo las mismas condiciones operativas.

Cada determinación individual se debe realizar en el caso de sustancias activas al nivel de 100% del procedimiento de análisis (ver inciso 4.2.4).

La evaluación de los resultados se lleva a cabo tomando como límite el límite del procedimiento específico de análisis.

4.3.2.5 Precisión del método

4.3.2.5.1 Sustancia activa

Determinar la desviación estándar relativa de 6 determinaciones independientes de concentración de la muestra (preparada según inciso 4.2.4). Para ello realizar la calibración con 6 estándares e inyectar 6 soluciones de muestra de forma alterna según la secuencia:

Tabla V Secuencia precisión del método

Estándar 1	Estándar 2	Estándar 3	Estándar 4	Estándar 5	Estándar 6
Muestra 1	Muestra 2	Muestra 3	Muestra 4	Muestra 5	Muestra 6

4.3.2.5.2 Evaluación

Los resultados de análisis individuales de concentración, su valor promedio y la desviación estándar relativa son reportadas.

4.3.2.6 Precisión interna del laboratorio

4.3.2.6.1 Sustancias activas

Se realiza en forma análoga a la determinación de la precisión del método según 4.3.2.5, se determina la influencia de:

- Distintas personas
- Distintos equipos
- Diferentes días de trabajo

4.3.2.7 Sobre el resultado

La influencia de estas variaciones no tiene que ser realizada de forma individual, sino que puede ser probada en conjunto.

4.3.2.7.1 Evaluación

Los resultados de análisis individuales de concentración, su valor promedio y la desviación estándar relativa son reportadas.

4.4 Criterios utilizados en el procedimiento para la evaluación de parámetros

4.4.1 Selectividad

4.4.1.1 Muestra

Pesar 250 mg. de la crema y proceder según inciso 4.2.5 “Solución Muestra”, usar la secuencia descrita para este punto en 4.3.2.1.

4.4.1.2 Estándar

Pesar 50 mg. de el estándar de clotrimazol y proceder según inciso 4.2.4 “Solución Estándar”, usar la secuencia descrita en el inciso 4.3.2.1.

4.4.1.3 Filtros de nylon de 0.45 μm

Preparar una solución de acuerdo al inciso 4.2.5 “Solución Muestra”, sin agregar muestra y filtrarla a través de estos filtros, utilizar la secuencia descrita en 4.3.2.1.

4.4.1.4 Medio de dilución

Realizar el mismo procedimiento descrito en el inciso anterior.

4.4.2 Linealidad

- Hacer una solución Stock de estándar de Clotrimazol pesando 250 mg de Clotrimazol en balón volumétrico de 100 ml. Disolver en acetonitrilo y aforarlo con el mismo solvente.
- Hacer las diluciones para cada uno de los puntos de acuerdo a la tabla IV y preparar las muestras de acuerdo inciso 4.2.4 “Solución Estándar”, la secuencia debe hacerse según se indica en inciso 4.3.2.2.

Tabla VI Rango a analizar para linealidad del método

NIVEL DE CONCENTRACIÓN	ESTÁNDAR	PESO O DILUCIÓN
50%	Clotrimazol	Alicuota de 10 ml de Solución Stock de Estándar
75%	Clotrimazol	Alicuota de 15 ml de Solución Stock de Estándar
100%	Clotrimazol	50.0 mg
125%	Clotrimazol	62.5 mg
150%	Clotrimazol	75.0 mg

4.4.3 Precisión de método

Realizar 6 determinaciones de muestra preparando cada una de ellas según inciso 4.2.5 “Solución de Muestra”, usar secuencia según inciso 4.3.2.3.

4.4.4 Precisión interna

Proceder de la misma manera que en el inciso anterior. Este punto lo realiza otra persona en el mismo equipo en el cual se desarrolla la validación.

4.4.5 Exactitud

- Realizar un ensayo de la crema preparando la muestra y estándar de acuerdo al inciso 4.2.5 y 4.2.4 respectivamente, este ensayo se utilizará para el cálculo de exactitud, según el método de acumulación descrito en el inciso 4.3.2.3.
- Preparar una solución Stock de Estándar pesando 125 mg de Clotrimazol en un balón de 100 ml, hacer la dilución de acuerdo a inciso 4.2.4 “Solución de Estándar”.
- Preparar soluciones, según describe tabla V para cada nivel a analizar utilizando inciso 4.2.5 “Solución de Muestra”, secuencia de análisis de acuerdo a inciso 4.3.2.3.

Tabla VII Cantidades requeridas para análisis de exactitud

Nivel de 100%	Peso
Clotrimazol crema	250.0 mg
Nivel de 125%	Peso
Clotrimazol crema	250.0 mg
Estándar de Clotrimazol	10 ml de Solución Stock de Estándar (12.5 mg)
Nivel de 150%	Peso
Clotrimazol crema	250.0 mg
Estándar de Clotrimazol	20 ml de Solución Stock de Estándar (25 mg)

4.4.6 Precisión de equipo

Realizar seis determinaciones de Estándar preparado de acuerdo a inciso 4.2.4 “Solución de Estándar”, evaluar según inciso 4.3.2.4.

4.4.7 Rango

Documentar el rango de método, en el cual se examinó linealidad, precisión y exactitud para Clotrimazol.

5. RESULTADOS

5.1 Sumario

Se procedió a la fabricación de tres lotes de Clotrimazol Crema (A, B, C) con el propósito de validar el proceso de fabricación de este producto.

El proceso fue llevado a cabo siguiendo las indicaciones descritas en el Procedimiento Maestro de Producción. Los resultados fueron registrados en los protocolos de producción, para Clotrimazol Crema.

Este reporte hace referencia a cada una de las áreas por las cuales es procesado el material.

5.2 Formulación

Los materiales cumplen con la descripción definida en el protocolo de producción. No se registraron desviaciones al procedimiento. En la tabla VIII se presentan los lotes de las materias primas consumidas en el proceso de validación.

Tabla VIII Clotrimazol crema

Fórmula unitaria			Lote A	Lote B	Lote C
Material	Peso Objetivo	UM	Cantidad (g)	Cantidad (g)	Cantidad (g)
Clotrimazol USP (5% de Exceso)	0,2098	g	522,5	523,25	522,5
Alcohol Cetílico USP	0,8984	g	2247,5	2246,25	2247,5
Emulgade CBN	4,9200	g	12300,25	12300	12300,25
Propilparabeno USP	0,0500	g	125	127,5	125
Metilparabeno USP	0,0500	g	125,25	125	125,25
Agua Purificada USP	13,8720	g	34680	34678,75	34680
Peso Teórico (20 g / tubo)	20	g			
		Control de Peso	50000,5	50000,75	50000,5

La dosificación individual de cada material y los controles de peso resultantes cumplen con los límites especificados.

5.3 Producción de crema y empaque

Los lotes de Clotrimazol fueron elaborados en una marmita como la descrita en el inciso 4.1.2 y el llenado se llevó a cabo con una llenadora descrita en el mismo inciso.

En la tabla IX se presentan los parámetros de control de temperaturas de los procesos de producción de la crema, para cada uno de los 3 lotes de validación.

Tabla IX Parámetros del proceso de formulación

Parámetros		Lote A	Lote B	Lote C
Fase Oleosa	Temperatura Fundición (°C)	59	60	60
	Temperatura Mezclado (°C)	50	50	50
Fase Acuosa	Temperatura Calentamiento (°C)	49	49	49
	Tiempo de Agitación (min.)	15	15	15
	Tiempo de Homogenización (min.)	10	10	10

En la tabla X se presentan los parámetros utilizados durante el proceso de sellado, para cada uno de los 3 lotes de validación.

Tabla X Parámetros del proceso de sellado

Parámetro Sugerido	Parámetros	Lote A	Lote B	Lote C
Peso de Llenado	20 g / tubo	20	20	20
Velocidad de Llenado	40 tubos / vuelta	40	40	40

En la tabla XI se muestran los valores reportados en el desperdicio de tubos vacíos, tubos llenos y producto.

Tabla XI Desperdicios

	Lote A	Lote B	Lote C
Peso de Producto Desperdiciado (kg)	0,5	0,3	0,5
Tubos desperdiciados sin producto (kg)	0,5	0	0,25
Tubos desperdiciados con producto (kg)	1,25	0,75	1,25

En la tabla XII se presentan los lotes y la cantidad de los materiales de empaque primario consumidos en el proceso de validación.

Tabla XII Consumo empaque primario

	Lote A	Lote B	Lote C
Tubos colapsables (unidades)	2515	2503	2510
Cartón Clotrimazol Crema con Separador 50's (unidades)	102	100	100

5.4 Proceso de acondicionamiento

El proceso de acondicionamiento fue realizado empacando cada uno de los lotes en tubos de 20 g la presentación (el proceso fue realizado en línea).

Tabla XIII Rendimientos

Lote	Cantidad	Rendimiento
A	2492	99,68
B	2492	99,68
C	2492	99,68

Los 3 lotes cumplen con el rendimiento propuesto de (2475 - 2525 tubos / Lote), se mantienen los límites de proceso.

5.5 Características de la crema / resultados de control en proceso

Todos los resultados fueron anotados en el protocolo de producción correspondiente a cada lote de producto. La siguiente sección muestra los parámetros individuales de las cremas, para todas las muestras analizadas a lo largo de los tres lotes de validación.

5.5.1 Homogeneidad

Tabla XIV Resultados de homogeneidad

Especificación	Parámetros	Lote A	Lote B	Lote C
Cuadro Microscópico (caja de Petri)	no más de 5 micrometros	cumple	cumple	cumple

De las 6 muestras tomadas (2 por cada lote) se determinó que los tiempos de agitación y homogenización, además de las temperaturas son los adecuados para obtener una crema homogénea.

5.5.2 Contenido de Clotrimazol

Tabla XV Contenido de Clotrimazol

	Lote A	Lote B	Lote C
Promedio	1,0304	1,0201	1,0286
Desv. Est.	0,03255	0,02680	0,03132
C.V.	0,03159	0,02627	0,03045
L. Superior	1,1000	1,1000	1,1000
L. Inferior	0,9000	0,9000	0,9000
Cp	1,02	1,24	1,06
Cpk	1,34	1,49	1,37
X + 3 σ	1,1281	1,1005	1,1226
X - 3 σ	0,9357	0,9413	0,9373

De los 18 datos individuales no se encuentra ninguno fuera de los límites de paro del contenido objetivo (1,1000 – 0,9000 g / 100 g), así mismo a partir de los resultados de la tabla anterior se observa que el proceso se encuentra bajo control de acuerdo a los coeficientes de Control en Proceso (Cp y Cpk >1).

5.5.3 Microbiología

Tabla XVI Resultados microbiológicos

Análisis	Parámetros	Lote A	Lote B	Lote C
Recuento Aeróbico en placa	Máx. 1000 UFC / g	< 10	< 10	< 10
Recuento de mohos y levaduras	Máx. 100 UFC / g	< 10	< 10	< 10
Ausencia de Microorganismos Patógenos	Ausencia	cumple	cumple	cumple

De acuerdo con la tabla XVI, se determina que el proceso cumple para la especificación de Microbiología y por consiguiente con los parámetros de control de proceso, requeridos para la validación.

5.6 Resultados método analítico

5.6.1 Puntos de evaluación elegidos

- Selectividad
- Exactitud
- Precisión del método
- Precisión del equipo
- Linealidad
- Precisión interna del Método
- Rango

5.6.2 Selectividad

El método cromatográfico de acuerdo al procedimiento es capaz de identificar las sustancias contenidas en la formulación de crema antimicótica de acuerdo a la tabla siguiente:

Tabla XVII Resultados de Selectividad

Sustancia	Tiempo de retención
Clotrimazol	2.7 minutos

5.6.3 Exactitud

5.6.3.1 Método de placebo

Los resultados del análisis por el método HPLC, han sido comparados contra una muestra más ingredientes activos en exceso en cantidad conocida.

Los resultados son los siguientes:

- El método de análisis es exacto:
 - Es lineal en el rango de trabajo
 - Es selectivo a los ingredientes de interés

Tabla XVIII Estándar utilizado

Descripción	Clotrimazol
Pureza	99.8 %
Factor de dilución de Estándar	0.02 [1/ml]
Factor de dilución de Muestra	0.02 [1/ml]

- Cálculos:

Tabla XIX Resultados análisis de exactitud

	Estándar [mg]	Dilución Est. [mg/ml]				
1	50.9	1.0160				
2	50.9	1.0160				
3	50.9	1.0160				
Cont. De			Estándar - 1	Area Estándar	Factor Resp. - 1	
Clotrimazol	204.52	Mg/100 mg		536027	1,89536e-06	
Nivel	Placebo	Peso Muestra	[mg/100 mg]	Area Muestra	[mg/100 mg]	% Recuperación
	[mg]	[mg]	Nominal		Analizada	
100 % - 1	-	52.8	1.0557	557439	1.0565	100.08
125 % - 1	-	65.3	1.3053	688263	1.3045	99.94
150 % - 1	-	77.8	1.5557	812902	1.5407	99.04
			Estándar - 2	Area Estándar	Factor Resp. - 2	
				536728	1.89288e-06	
Nivel	Placebo	Peso Muestra	[mg/100 mg]	Area Muestra	[mg/100 mg]	% Recuperación
	[mg]	[mg]	Nominal		Analizada	
100 % - 2	-	52.8	1.0557	559073	1.0583	100.24
125 % - 2	-	65.3	1.3053	691312	1.3086	100.25
150 % - 2	-	77.8	1.5557	810939	1.5350	98.67
			Estándar - 3	Area Estándar	Factor Resp. - 3	
				536658	1.89313e-06	
Nivel	Placebo	Peso Muestra	[mg/100 mg]	Area Muestra	[mg/100 mg]	% Recuperación
	[mg]	[mg]	Nominal		Analizada	
100 % - 3	-	52.8	1.0557	557190	1.0548	99.92
125 % - 3	-	65.3	1.3053	688330	1.3031	99.83
150 % - 3	-	77.8	1.5557	810904	1.5351	98.68

5.6.3.2 Interpretación estadística

Número de Datos: 9

Tabla XX Interpretación estadística de exactitud

Promedio	99.63	%
Desviación Estándar	0.65	
Coefficiente de Variación (%)	0.65	%

Intervalo 95.5% (2 Desviaciones Estándar) de: 98.33 a 100.93

Intervalo 99.7% (3 Desviaciones Estándar) de: 97.68 a 101.57

Intervalo de confianza del valor medio (P = 0.95):

$$99.63 \pm 0.50$$

5.6.3.3 Conclusión

Prueba de Exactitud cumple: 100 % queda dentro del intervalo de confianza de 0.95

5.6.4 Precisión del método

- Descripción de Estándar:

Clotrimazol

Pureza de 99.8%

- Factor de dilución de Estándar 0.02 [1/ml]
- Factor de dilución de la Muestra 0.02 [1/ml]
- 6 muestras se analizaron según procedimiento
- Cada muestra se analizó contra el estándar de referencia
- La secuencia de análisis es de 6 estándares contra 6 muestras, inyectadas en forma secuencial
- Se calcularon el coeficiente de variación y la media del contenido de Clotrimazol
- Contenido de la muestra:

Tabla XXI Resultados de precisión de método

		Peso Crema		971.32 mg			
No.	Conc. [mg/100mg]	Area Mta.	Peso Estándar (mg)	Estándar [mg/100mg]	Area Estándar	Factor Resp. Estándar	[mg/100m g]
1	194.2640	554946	50.1	1.000	536314	1.86e-06	0.01
2	194.2640	556260	50.1	1.000	536246	1.86e-06	0.01
3	194.2640	563276	50.1	1.000	536671	1.86e-06	0.01
4	194.2640	569569	50.1	1.000	536558	1.86e-06	0.01
5	194.2640	560444	50.1	1.000	537277	1.86e-06	0.01
6	194.2640	567628	50.1	1.000	536202	1.86e-06	0.01

5.6.4.1 Interpretación estadística

No. de Datos: 6

Valor Promedio: 0.01

Desviación Estándar: 0.00

Coefficiente de Variación: 1.05 %

Intervalo 95.5 % (2 Desviación Estándar) de: 0.01 a 0.01

Intervalo 99.7 % (3 Desviación Estándar) de: 0.01 a 0.01

Intervalo de confianza del valor medio (P = 0.95):

$$0.01 \pm 0.00$$

5.6.5 Precisión de equipo

- Una solución estándar preparada según el procedimiento se inyectó 6 veces.
- El coeficiente de variación de las señales del detector fue calculado.
- Descripción del Estándar

Clotrimazol pureza 98 %

- Factor de dilución del Estándar: 0.02 [1/ml]

Tabla XXII Resultados precisión de equipo

No.	Peso Muestra [mg]	Conc. [mg/ml]	Volumen Estándar [ml]
1	50.1	1.000g0	528781
2	50.1	1.0000	537724
3	50.1	1.0000	537416
4	50.1	1.0000	537627
5	50.1	1.0000	537191
6	50.1	1.0000	539275

5.6.5.1 Interpretación estadística

No. de Datos: 6

Media: 538002.33

Desviación Estándar: 830.23

Coefficiente de Variación [%]: 0.15

Intervalo 95.5 % (2 Desviación Estándar) de: 536341.88 a 539662.79

Intervalo 99.7 % (3 Desviación Estándar) de: 535511.65 a 540493.02

Intervalo de confianza del valor medio (P = 0.95):

$$538002.33 \pm 871.27$$

5.6.6 Linealidad

La linealidad del método fue calculada por medio de 5 diluciones a las concentraciones siguientes: 50 %, 75 %, 100 %, 125 % y 150 % de la cantidad

declarada en la etiqueta (Rango del Método). Cada dilución fue inyectada por duplicado.

- Datos del Estándar:
Clotrimazol pureza 99.8 %
- Factor de dilución 0.02 [1/ml]

Tabla XXIII Resultados de linealidad

Nivel de Concentración	Peso (mg)	Conc. [mg/100mg]	UM Area	$\frac{(vm1 + vm2)}{2}$
		0.000		
50 % - 1	25.0	0.4994	274438	
50 % - 2	25.0	0.4994	275363	274901
75 % - 1	37.5	0.7491	404300	
75 % - 2	37.5	0.7491	403462	403881
100 % - 1	51.0	1.0180	545682	
100 % - 2	51.0	1.0180	544705	545193.5
125 % - 1	62.6	1.2495	667940	
125 % - 2	62.6	1.2495	667029	667484.5
150 % - 1	75.8	1.5130	802378	
150 % - 2	75.8	1.5130	802098	802238
		1.7814		

5.6.6.1 Interpretación estadística

No. de Datos: 10

Promedio: 1.0058

b (gradiente): 521548.72

a (intercepto eje Y): 14173.94

r: 1.0000

a basado en Y_{max} .: 1.77

T ($c_{ref} = c_{max}$): 24098

$|a|$: 14174

5.6.6.2 Conclusión

Criterio de linealidad cumple.

5.6.7 Precisión interna del laboratorio

- Estándar utilizado:

Clotrimazol pureza 99.8 %

- Factor de dilución del Estándar: 0.02 [1/ml]
- Factor de dilución de la Muestra: 0.02 [1/ml]
- 6 muestras han sido analizadas siguiendo el procedimiento
- Cada muestra se analizó contra el estándar de referencia
- La secuencia de análisis es de 6 estándares contra 6 muestras, inyectadas en forma secuencial
- Se calcularon el coeficiente de variación y la media del contenido de Clotrimazol
- Contenido de la muestra en mg/tab:

Tabla XXIV Resultados de precisión interna del laboratorio

No.	Conc. [mg/100mg]	Volumen Mta. [ml]	Conc. Estándar [mg/100mg]	Volumen Estándar [ml]	Factor Resp. Estándar	Conc. [mg/100mg]
1	194.2640	1121274	1.0020	1065094	9.41e-07	0.01
2	194.2640	1071082	1.0020	1066046	9.40e-07	0.01
3	194.2640	1118092	1.0020	1066751	9.39e-07	0.01
4	194.2640	1089877	1.0020	1066541	9.39e-07	0.01
5	194.2640	1112386	1.0020	1065973	9.40e-07	0.01
6	194.2640	1111922	1.0020	1066564	9.39e-07	0.01

5.6.7.1 Interpretación estadística

Cantidad de Datos: 6

Valor promedio: 0.01

Desviación Estándar: 0.00

Coefficiente de Variación: 1.78 %

Intervalo 95.5 % (2 Desviación Estándar) de: 0.01 a 0.01

Intervalo 99.7 % (3 Desviación Estándar) de: 0.01 a 0.01

Intervalo de confianza de valor medio (P = 0.95):

$$0.01 \pm 0.00$$

5.6.8 Rango

A las condiciones de trabajo especificadas en el procedimiento, se han optimizado los siguientes parámetros selectividad del cromatograma, tendencias de la determinación cuantitativa para cada componente individual.

Tabla XXV Resultados de rango

Parámetro	Descripción	Rango Adecuado
Fase Móvil	Ver Inciso 4.2.3	Proporción descrita en el inciso para las fases
Medio de disolución	Ver Inciso 4.2.4	La proporción descrita en el inciso
Flujo	Ver procedimiento de análisis para condiciones Cromatográficas	1 ml / min
Temp. de Columna		40°C
Columna de Separación	Ver procedimiento de análisis para características de columna	LiChroCART 125mm x 4 mm DI HPLC Cartridge / Empaque Supersphere 100 RP-18
Longitud de Onda		254 nm
Volumen de inyección		5 µl
Linealidad	Rango: 50 - 150 %	Se confirmó el rango de linealidad de 0.4994 a 1.5130 mg/ml, cumple
Exactitud	Rango: 100 - 150 %	Se confirmó el rango de exactitud de 1.0557 a 1.5557 mg/ml cumple
Precisión del gMétodo	Nivel 100 %	Se confirmó la precisión del método ver resultados en Inciso 5.6.4
Reactivos	Ver inciso 4.2.2 para descripción de los mismos	

CONCLUSIONES

1. El proceso de Fabricación validado se encuentra dentro de las especificaciones preestablecidas de control.
2. El proceso de Fabricación asegura tener un rendimiento óptimo de consumo de materiales que no da lugar a costos elevados de operación.
3. El método de análisis cumple con todos los requisitos de validación de método para un ingrediente activo.
4. El método de análisis permite cuantificar la concentración del activo.

RECOMENDACIONES

1. Para que la validación del Proceso de Fabricación sea completo es aconsejable que se haga una revisión de todos los cambios registrados, durante seis meses, para así cumplir con la etapa de control de cambios y por consiguiente desarrollar el programa de revalidación del proceso en los aspectos que hayan cambiado y que influyan directamente en las especificaciones del producto y proceso.
2. Con respecto a la validación del método cabe mencionar que se debe de trabajarlo en condiciones más extremas (cambio de pH, temperatura del Horno, flujo de la fase móvil) donde realmente se pueda concluir que el método aún cumple con los requisitos para el cual fue desarrollado.

BIBLIOGRAFÍA

1. Antúnez S., Carro A. M., García A., Niubo C., **Validación de Métodos Analíticos**, Asociación Española de Farmacéuticos de la Industria (A.E.F.I.), Barcelona, Marzo 2001.
2. Marroquín Tello, Paola Inés, **Guía para la validación de procesos en la manufactura de productos farmacéuticos y alimenticios**. Trabajo de graduación Ing. Industrial, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Ingeniería, 1997, 95 pp.
3. SKOOG Douglas et al. **Química Analítica**. 7ª. Edición. México: McGraw-Hill Interamericana Editores, S.A. 2001.
4. **The United States Pharmacopeia USP 25**. United States Pharmacopeia Convention, Inc. 2004.