



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

**VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE  
SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON  
BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

**Lourdes Andrea González López**

Asesorado por la MSc. Inga. Claudia Leonela Calderón Aguilar

Coasesorado por el MSc. Lic. Gerbert Giovanni Solis Rosales

Guatemala, noviembre de 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE  
SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON  
BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA  
FACULTAD DE INGENIERÍA

POR

**LOURDES ANDREA GONZÁLEZ LÓPEZ**

ASESORADO POR LA MSC. INGA. CLAUDIA LEONELA CALDERÓN AGUILAR

COASESORADO POR EL MSC. LIC. GERBERT GIOVANNI SOLIS ROSALES

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

**INGENIERA QUÍMICA**

GUATEMALA, NOVIEMBRE DE 2015

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA  
FACULTAD DE INGENIERÍA



**NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA**

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
VOCAL I	Ing. Angel Roberto Sic García
VOCAL II	Ing. Pablo Christian de León Rodríguez
VOCAL III	Inga. Elvia Miriam Ruballos Samayoa
VOCAL IV	Br. Raúl Eduardo Ticún Córdova
VOCAL V	Br. Henry Fernando Duarte García
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

**TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO**

DECANO	Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
EXAMINADOR	Ing. Adolfo Narciso Gramajo Antonio
EXAMINADOR	Ing. Carlos Salvador Wong Davi
EXAMINADOR	Ing. Erwin Manuel Ortiz Castillo
SECRETARIA	Inga. Lesbia Magalí Herrera López

## **HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR**

En cumplimiento 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 UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 26 de noviembre del 2014.



**Lourdes Andrea González López**



Guatemala, 14 de agosto de 2015


Ingeniero  
Victor Manuel Monzón Valdez  
Director Escuela de Ingeniería Química  
Universidad de San Carlos de Guatemala

Estimado Ingeniero:

Por este medio le informo he revisado el trabajo de graduación titulado: **“VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA”**, elaborado por la estudiante **Lourdes Andrea González López**.

El mencionado trabajo llena los requisitos para dar mi aprobación e indicarle que el autor y mi persona somos responsables por el contenido y conclusión del mismo.

Atentamente



Inga. Qca. MSc. Claudia Leonela Calderón Aguilar

Aesora

*Claudia Leonela Calderón Aguilar*  
INGENIERA QUIMICA  
BOLEGIADO 1,811

DROGUERIA Y LABORATORIO  
**PHARMALAT**

0 Avenida "C" 2-55 Zona 6  
Colonia Najarito, Villa Nueva,  
Guatemala

Guatemala, 25 de septiembre de 2015.  
Ref. EIQ.TG-IF.066.2015.

Ingeniero  
**Víctor Manuel Monzón Valdez**  
DIRECTOR  
Escuela de Ingeniería Química  
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Monzón:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo **105-2014** le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

### INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Lourdes Andrea González López**.  
Identificada con número de carné: **2010-20264**.  
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA**.


Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

### VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera Química: **Claudia Leonela Calderón Aguilar**.

Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

  
Ing. Gerardo Ordoñez  
COORDINADOR DE TERNA  
Tribunal de Revisión  
Trabajo de Graduación




C.c.: archivo



Ref.EIQ.TG.155.2015

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **LOURDES ANDREA GONZÁLEZ LÓPEZ** titulado: "**VALIDACIÓN DE UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**". Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

*"Id y Enseñad a Todos"*

  
Ing. Otto Raúl de León de Paz  
Director a.i.  
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, octubre 2015

Cc: Archivo  
VMMV/ale






DTG. 577.2015

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 UN PROCEDIMIENTO DE LIMPIEZA EN EL ÁREA DE PRODUCCIÓN DE SEMISÓLIDOS Y DEL EQUIPO DE EMULSIFICACIÓN QUE TRABAJA CON BETAMETASONA EN UNA INDUSTRIA FARMACÉUTICA**, presentado por la estudiante universitaria: **Lourdes Andrea González López**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:



Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco  
Decano

Guatemala, noviembre de 2015

/gdech



## **ACTO QUE DEDICO A:**

- Dios** Por ser la fuente de mi vida, mi fortaleza, roca firme y guía a lo largo de toda mi existencia.
- Mi papá** Maynor González, por ser mi ejemplo de éxito y superación, por motivarme siempre a seguir mis sueños y por su inmenso e incondicional apoyo y amor en cada paso que doy.
- Mi mamá** Miriam de González, por ser pilar fundamental en mi vida enseñándome con el ejemplo, a ser una mujer fuerte y positiva, y por su incomparable amor, dedicación y apoyo a lo largo de todo mi camino.
- Mi hermana** Gabriela González, porque juntas recorrimos todo el trayecto, por ser mi mejor amiga y compañera toda la vida, por siempre saber convertir los días duros en fáciles y por demostrarme su amor sincero cada segundo.
- Mi hermano** Daniel Estuardo González, por ser mi motivación y apoyo incondicional desde que nació, por hacerme reír y disfrutar mucho más la vida, por darme fuerzas y todo su amor cuando más lo necesito.

**Mi abuela**

Gloria Galindo, por ser como una segunda madre y ejemplo en mi vida, por enseñarme a nunca rendirme y demostrarme su amor con la más deliciosa comida.

**Mis tíos**

Aroldo, Henry, Guillermo, Mainor, Ingrid y Lourdes López por creer en mí, brindándome su amor y apoyo y festejar conmigo cada triunfo.

**Mis primos**

Rodrigo López, Pablo, Christian y Mónica Arana, Osaomi y Giancarlo Berducido, Daniela, Diego, Esteban y Bárbara López, Eithan Galindo y Zoe Arana por todas las risas y los buenos momentos.

## **AGRADECIMIENTOS A:**

<b>Dios</b>	Porque Él me ha llevado de victoria en victoria y por su infinito amor.
<b>Mi papá</b>	Por su esfuerzo y paciencia para que mi vida esté llena de felicidad.
<b>Mi mamá</b>	Por sus consejos llenos de sabiduría y su dedicación constante.
<b>Mi hermana</b>	Por su compañía y locuras en los momentos que más la necesito.
<b>Mi hermano</b>	Por su confianza en mí y su ayuda a enfocarme siempre en la meta.
<b>Mi abuela</b>	Por compartir conmigo cada alegría e impulsarme a ser mejor.
<b>Mi familia</b>	Por creer en mí desde el primer día y hacerme sentir su cariño.
<b>Mis amigos</b>	Por todo el apoyo, cariño, risas y aventuras que vivimos durante estos años.

**Universidad de San  
Carlos de Guatemala**

Por brindarme una educación integral y darme la oportunidad de crecer de manera personal y profesional.

**Pharmalat, S. A.**

Por abrirme las puertas y darme la oportunidad de desarrollarme laboralmente; y por haber confiado en mí para realizar el presente trabajo de investigación.



## ÍNDICE GENERAL

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	VII
LISTA DE SÍMBOLOS .....	XI
GLOSARIO .....	XIII
RESUMEN.....	XVII
OBJETIVOS.....	XIX
Hipótesis .....	XX
INTRODUCCIÓN .....	XXI
1.    ANTECEDENTES .....	1
2.    MARCO TEÓRICO.....	3
2.1.    Validación .....	3
2.1.1.    Validación de un proceso o procedimiento .....	3
2.1.1.1.    Validación de un procedimiento de limpieza .....	5
2.2.    Plan maestro de validación .....	7
2.2.1.    Limpieza de áreas y equipos .....	8
2.2.2.    Límite de aceptación de residuos .....	9
2.2.2.1.    Inspección visual .....	10
2.2.2.2.    Dosis terapéutica .....	11
2.2.2.3.    Información toxicológica .....	11
2.2.2.4.    Criterio de 10 partes por millón (10 ppm) .....	12
2.2.3.    Procedimiento de limpieza estándar.....	12
2.2.4.    Selección del peor caso.....	13

	2.2.4.1.	Puntos críticos de muestreo .....	13
2.2.5.		Métodos de muestreo .....	14
	2.2.5.1.	Método de hisopado .....	15
2.2.6.		Métodos o valoraciones analíticas .....	15
	2.2.6.1.	Método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia .....	15
	2.2.6.2.	Método analítico de conductividad .....	16
		2.2.6.2.1. Fundamento .....	16
		2.2.6.2.2. Procedimiento .....	17
	2.2.6.3.	Parámetros para validar métodos analíticos .....	17
2.2.7.		Fecha de caducidad de la limpieza .....	18
2.2.8.		Control de cambios y desvíos .....	19
2.2.9.		Revalidación .....	20
2.2.10.		Protocolo e informe final de validación .....	21
2.3.		Betametasona dipropionato .....	24
	2.3.1.	Datos físicoquímicos .....	25
	2.3.2.	Propiedades y usos .....	25
	2.3.3.	Dosificación .....	25
	2.3.4.	Efectos secundarios .....	26
	2.3.5.	Contraindicaciones .....	26
2.4.		Agente tensoactivo .....	26
	2.4.1.	Clasificación de los tensoactivos .....	27
		2.4.1.1. Tensoactivos iónicos .....	27
		2.4.1.2. Tensoactivos no iónicos .....	28
3.		DISEÑO METODOLÓGICO .....	29
	3.1.	Variables .....	29
	3.2.	Delimitación de campo de estudio .....	31

3.3.	Recursos humanos disponibles .....	32
3.4.	Recursos materiales disponibles .....	32
3.4.1.	Cristalería y equipo .....	32
3.4.1.1.	Cromatografía líquida de alta eficacia .....	32
3.4.1.2.	Conductividad .....	33
3.4.2.	Reactivos .....	33
3.5.	Técnica cuantitativa .....	33
3.5.1.	Validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia .....	34
3.5.1.1.	Determinación de especificidad del método .....	34
3.5.1.2.	Determinación de linealidad, exactitud y precisión del método .....	34
3.5.2.	Validación del método analítico de conductividad ..	35
3.5.2.1.	Determinación de linealidad, exactitud y precisión del método .....	35
3.5.3.	Evaluación de la concentración de betametasona presente en el área y equipo .....	36
3.5.3.1.	Para superficie plana .....	37
3.5.3.2.	Para tubería .....	38
3.5.4.	Evaluación de la concentración de agente tensoactivo presente en el área y equipo .....	40
3.6.	Recolección y ordenamiento de la información .....	40
3.7.	Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información .....	41
3.7.1.	Plan de análisis de los resultados .....	47
3.7.1.1.	Métodos y modelos de los datos, según tipo de variables .....	47

3.7.1.2.	Programas a utilizar para análisis de datos .....	48
3.8.	Análisis estadístico .....	48
4.	RESULTADOS.....	51
4.1.	Límite máximo aceptable de residuos .....	51
4.2.	Puntos críticos .....	51
4.2.1.	Equipo .....	51
4.2.2.	Área.....	53
4.3.	Validación del método analítico de conductividad .....	54
4.3.1.	Linealidad .....	54
4.3.2.	Precisión.....	56
4.3.3.	Exactitud.....	57
4.4.	Validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.....	58
4.4.1.	Linealidad .....	58
4.4.2.	Precisión.....	60
4.4.3.	Exactitud.....	61
4.4.4.	Intervalo.....	63
4.4.5.	Especificidad .....	63
4.5.	Validación del procedimiento de limpieza.....	64
4.5.1.	Corrida número 1 .....	64
4.5.1.1.	Análisis por medio del método de conductividad .....	64
4.5.1.2.	Análisis por medio del método de HPLC.....	65
4.5.2.	Corrida número 2 .....	65
4.5.2.1.	Análisis por medio del método de conductividad .....	65

4.5.2.2.	Análisis por medio del método de HPLC .....	66
4.5.3.	Corrida número 3.....	67
4.5.3.1.	Análisis por medio del método de conductividad.....	67
4.5.3.2.	Análisis por medio del método de HPLC .....	67
5.	INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS.....	69
	CONCLUSIONES .....	81
	RECOMENDACIONES .....	83
	BIBLIOGRAFÍA.....	85
	APÉNDICE.....	87
	ANEXOS.....	95



## ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

### FIGURAS

1.	Técnica de muestreo para el análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia en superficies planas.....	37
2.	Técnica de muestreo para el análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia en tuberías .....	38
3.	Puntos críticos localizados en el interior del equipo .....	52
4.	Puntos críticos localizados en las tuberías del equipo .....	52
5.	Puntos críticos localizados en el área .....	53
6.	Linealidad para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración de agente tensoactivo.....	55
7.	Exactitud para la validación método analítico de conductividad.....	57
8.	Linealidad para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.....	59
9.	Exactitud para la validación del método analítico cromatografía líquida de alta eficacia.....	62

### TABLAS

I.	Área de betametasona para la validación de cromatografía líquida de alta eficacia .....	42
II.	Área de clotrimazol para la validación de cromatografía líquida de alta eficacia .....	43
III.	Datos para la validación del método analítico de conductividad .....	45

IV.	Áreas de betametasona para la validación del procedimiento de limpieza.....	45
V.	Conductividad para la validación del procedimiento de limpieza .....	46
VI.	Límite máximo aceptable de residuos de betametasona .....	51
VII.	Descripción de puntos críticos dentro del equipo.....	53
VIII.	Descripción de puntos críticos en el área .....	53
IX.	Linealidad para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración de agente tensoactivo .....	54
X.	Modelo matemático de la linealidad para la validación del método analítico de conductividad.....	56
XI.	Precisión para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración del agente tensoactivo.....	56
XII.	Exactitud para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración del agente tensoactivo.....	57
XIII.	Modelo matemático de la exactitud para la validación del método de conductividad .....	58
XIV.	Linealidad para la validación del método analítico de HPLC .....	58
XV.	Modelo matemático de la linealidad para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia .....	60
XVI.	Precisión para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia en función de la concentración de la betametasona .....	60
XVII.	Exactitud de la validación del método analítico HPLC en función de la concentración de la betametasona .....	61
XVIII.	Modelo matemático de la exactitud del método analítico HPLC .....	62
XIX.	Rango en el cuál el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia es adecuado .....	63
XX.	Especificidad para la validación del método analítico HPLC .....	63



XXI.	Concentración de agente tensoactivo posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 1.....	64
XXII.	Concentración de betametasona posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 1.....	65
XXIII.	Concentración de agente tensoactivo posterior al procedimiento de limpieza de equipo y área, corrida número 2 .....	66
XXIV.	Concentración de betametasona posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 2.....	66
XXV.	Concentración de agente tensoactivo posterior al procedimiento de limpieza de equipo y área, corrida número 3 .....	67
XXVI.	Concentración de betametasona posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 3.....	68



## LISTA DE SÍMBOLOS

Símbolo	Significado
<b>A</b>	Área en los cromatogramas [mAU]
<b>A<sub>m</sub></b>	Área de muestreo [cm <sup>2</sup> ]
<b>A<sub>s</sub></b>	Área superficial de contacto [cm <sup>2</sup> ]
<b>N</b>	Cantidad de datos de la muestra
<b>cm<sup>2</sup></b>	Centímetros cuadrados
<b>R<sup>2</sup></b>	Coeficiente de correlación
<b>C<sub>v</sub></b>	Coeficiente de variación de la muestra
<b>X<sub>n</sub></b>	Concentración de materia prima de la muestra n
<b>C<sub>e</sub></b>	Concentración experimental
<b>C<sub>T</sub></b>	Concentración teórica
<b>σ</b>	Conductividad [μS/cm]
<b>S<sub>xy</sub></b>	Covarianza de una pareja de datos
<b>D<sub>e</sub></b>	Desviación estándar de la muestra
<b>LD<sub>50</sub></b>	Dosis letal media
<b>T<sub>0</sub></b>	Fecha de realización de limpieza
<b>T<sub>x</sub></b>	Fecha de vencimiento de limpieza
<b>°</b>	Grados
<b>°C</b>	Grados centígrados
<b>g</b>	Gramos
<b>β<sub>1</sub></b>	Intercepto
<b>kg</b>	Kilogramos
<b>X<sub>LMP</sub></b>	Límite máximo permitido de residuos
<b>m</b>	Metros

<b><math>\mu\text{g}</math></b>	Microgramos
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	Microlitros
<b><math>\mu\text{S}</math></b>	Microsiemens
<b>mg</b>	Miligramos
<b>mL</b>	Mililitros
<b>mm</b>	Milímetros
<b>mAU</b>	Miliunidades de área
<b>min</b>	Minutos
<b>nm</b>	Nanómetros
<b><math>T_n</math></b>	Número n de días posteriores a la limpieza
<b>ppm</b>	Partes por millón [mg/mL]
<b><math>\beta_1</math></b>	Pendiente
<b>%</b>	Porcentaje
<b>C%</b>	Porcentaje de concentración
<b>pH</b>	Potencial de Hidrógeno
<b><math>C_{v\text{prom}}</math></b>	Promedio del coeficiente de variación
<b><math>\overline{X}_m</math></b>	Promedio de la muestra
<b><math>\overline{Y}</math></b>	Promedio de la variable dependiente
<b><math>\overline{X}</math></b>	Promedio de la variable independiente
<b>S</b>	Siemens
<b><math>T_L</math></b>	Tamaño del lote [kg]
<b>T</b>	Temperatura [°C]
<b><math>X_i</math></b>	Valor de la i-enésima muestra, variable independiente
<b><math>Y_i</math></b>	Valor de la i-enésima variable dependiente
<b>X</b>	Valor medio de la variable independiente
<b>Y</b>	Valor teórico de la variable dependiente
<b><math>S_{yy}</math></b>	Varianza de la variable dependiente
<b><math>S_{xx}</math></b>	Varianza de la variable independiente
<b><math>V_m</math></b>	Volumen de muestreo [mL]

## GLOSARIO

<b>Análisis cualitativo</b>	Búsqueda de información sobre la identidad o forma de la sustancia presente.
<b>Análisis cuantitativo</b>	Determinación de la abundancia absoluta o relativa (muchas veces expresada como concentración) de uno, varias o todas las partículas sustancias químicas presentes en una muestra.
<b>Blanco</b>	Disolución que contiene todos los componentes de la matriz, excepto el analito.
<b>Fase estacionaria</b>	Fase no polar en la cual están retenidos los componentes de la muestra.
<b>Fase móvil</b>	Disolución líquida polar que fluye a través de una fase estacionaria, arrastrando con ella a los compuestos de la mezcla.
<b>Límite de cuantificación</b>	Menor concentración del compuesto problema en una muestra, susceptible de cuantificación de manera reproducible.
<b>Límite de detección</b>	Cantidad mínima de analito presente en una muestra que se puede detectar pero no cuantificar con exactitud.

<b>Limpieza en sitio</b>	Limpieza de equipos y sistemas que no se pueden desarmar o desplazar; el agente limpiador debe circular lentamente a través de las piezas.
<b>Fase estacionaria</b>	Fase no polar en la cual están retenidos los componentes de la muestra.
<b>Fase móvil</b>	Disolución líquida polar que fluye a través de una fase estacionaria, arrastrando con ella a los compuestos de la mezcla.
<b>Placebo</b>	Sustancia farmacológicamente inerte que se utiliza como el cero para la magnitud de estudio.
<b>Procedimiento normalizado</b>	Procedimientos escritos y aprobados según las normas de correcta elaboración y control de calidad, que describen, de forma específica, los pasos que se llevan a cabo.
<b>Pruebas analíticas</b>	Método de investigación que consiste en la desmembración de un todo, descomponiéndolo en sus partes o elementos para observar las causas, la naturaleza y los efectos.
<b>Fase móvil</b>	Disolución líquida polar que fluye a través de una fase estacionaria, arrastrando con ella a los compuestos de la mezcla.

<b>Solución estándar</b>	Preparación que contiene una concentración conocida de un elemento o sustancia específica.
<b>Tiempo de retención</b>	Tiempo que tarda un compuesto a ser eluido de la columna cromatográfica.
<b>Validación prospectiva</b>	Ejecución y documentación de un protocolo de prueba aprobado previamente, cuya finalidad es demostrar que un proceso opera según lo previsto, antes de autorizar la distribución del producto fabricado.
<b>Validación retrospectiva</b>	Involucra la evaluación de experiencias pasadas a través de la documentación de producción, bajo la condición de que la composición, procedimientos y equipos permanezcan sin cambios.





## RESUMEN

El objetivo principal de la investigación es validar dos procedimientos de limpieza, uno en el área de producción de semisólidos y otro en el equipo de emulsificación de una industria farmacéutica.

Para esto se aplicaron las normas exigidas para validaciones por la Organización Mundial de la Salud (OMS) y el Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA 11.03.39: 06) como requisitos importantes, siguiendo las buenas prácticas de manufactura (BPM).

Se determinó el límite aceptable de residuos (LAR) de betametasona y del agente tensoactivo que puede existir en el equipo y área de trabajo posterior al procedimiento de limpieza. Al tomar las muestras y analizarlas, los resultados obtenidos se compararon con los LAR; ya que estos son menores entonces los procedimientos de limpieza fueron validados.

Se establecieron puntos críticos específicos en el equipo y en el área, de donde las muestras serán tomadas posterior a una limpieza. Para el análisis de las muestras se utilizó el método analítico de conductividad y el de cromatografía líquida de alta eficacia, en función de la determinación restos de agente tensoactivo y trazas existentes de betametasona, respectivamente. Ambos métodos analíticos fueron validados previamente.

Las tomas de muestras se realizaron en la planta de producción y, las validaciones de métodos analíticos y análisis de muestras en el laboratorio de control de calidad del Laboratorio y Droguería Pharmalat, S. A. Villa Nueva, Guatemala.



## **OBJETIVOS**

### **General**

Validar los procedimientos de limpieza en el área de producción de semisólidos y en el equipo de emulsificación, al trabajar con la betametasona como componente activo, en una industria farmacéutica.

### **Específicos**

1. Determinar los límites aceptables de residuos de betametasona y agente tensoactivo que pueden existir en el área y equipo después de una limpieza.
2. Establecer los puntos críticos en el área y en el equipo en donde se tomarán las muestras.
3. Validar el método analítico de conductividad para determinar los restos de agente tensoactivo, utilizando como criterios linealidad, precisión y exactitud del mismo.
4. Validar el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para la cuantificación de restos de betametasona, utilizando como criterios linealidad, precisión, exactitud, intervalo y especificidad.
5. Analizar las muestras tomadas por los métodos analíticos validados previamente y comparar los valores experimentales con los teóricos.

# Hipótesis

## Hipótesis científica

Es posible validar un procedimiento de limpieza en el área de producción de semisólidos y del equipo de emulsificación, que trabaja con betametasona en una industria farmacéutica, utilizando el método analítico de conductividad para determinar restos de agente tensoactivo y el método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) para cuantificación de restos de betametasona.

## Hipótesis estadística

**Ho:** ninguno de los dos métodos analíticos obtienen resultados menores al límite aceptable de residuos, calculado en todas las muestras tomadas, y por lo tanto, los procedimientos de limpieza no serán validados.

$$X_{LMP} \leq X_1, X_2, X_3$$

**Hi:** ambos métodos analíticos obtienen resultados menores al límite aceptable de residuos, calculado en todas las muestras tomadas, y por lo tanto, los procedimientos de limpieza si serán validados.

$$X_{LMP} > X_1, X_2, X_3$$

## INTRODUCCIÓN

La OMS y el RTCA (11.03.39: 06), con base en las buenas prácticas de manufactura (BPM) rigen normas y establecen pasos para una validación adecuada a equipos, métodos analíticos, procesos o procedimientos (como esterilización, fabricación, limpieza) y sistemas críticos (como aire, agua y vapor). Estas instituciones velan por la salud del consumidor y por la seguridad en las operaciones de manufactura, conforme con las normas mencionadas para garantizar la calidad y eficacia de los medicamentos de consumo humano. La presente investigación se enfocó en la validación de un procedimiento de limpieza en una industria farmacéutica.

Una validación es una prueba documentada que demuestra y asegura que el procedimiento estandarizado se realizará sistemáticamente y que los resultados obtenidos siempre serán los mismos previstos. Esta ofrece alta calidad en el producto, eficacia en el proceso y seguridad para operadores y consumidores.

Para validar la reproducibilidad y consistencia de un procedimiento de limpieza se deben aplicar las peores condiciones posibles en el área y equipo, y aun así, este tendrá que satisfacer todos los límites de aceptación. El criterio para elegir la validación de un área o equipo se basa en la necesidad de las condiciones más extremas de trabajo, ya que si los resultados son satisfactorios en estos, para condiciones menos críticas será más fácil su implementación.

Pharmalat, S. A. es una corporación internacional dedicada a mejorar la salud de los consumidores a través de la producción de medicamentos. En la

actualidad se fabrican diversos geles, cremas tópicas y cremas vaginales; basándose en el criterio del peor caso, dentro del universo de áreas y equipos, se elige el área de producción de semisólidos, y el equipo de emulsificación para fabricación de cremas para realizar la investigación.

Se evalúan todos los principios activos que se utilizan en el equipo de emulsificación (gentamicina, clotrimazol, betametasona, miconazol y diclofenaco) como componentes activos para producir tópicos antiinflamatorios, antialérgicos, antimicrobianos y fungicidas. Sin embargo en el presente estudio se trabajó con la betametasona como componente activo de interés, debido a que es un esteroide del grupo de los glucocorticoides y los datos toxicológicos demuestran una toxicidad aguda con una sobredosis ( $DL_{50}(\text{oral, rata}): >4 \text{ g/kg}$  y  $DL_{50}(\text{intraperitoneal, rata}): >4 \text{ g/kg}$ ). Puede ser nocivo por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. Un efecto crónico de la betametasona podría causar un teratógeno, siendo esta la materia prima más crítica.

Para llevar a cabo la validación del procedimiento de limpieza se deben utilizar equipos y métodos analíticos validados, ya que solo así se puede tener la certeza de que los resultados son reales. Es por eso que durante el desarrollo de la investigación, el método analítico de conductividad y el de cromatografía líquida de alta eficacia (en función de la determinación de la presencia de agente tensoactivo o de trazas de betametasona, respectivamente) fueron validados.

La validación del método analítico de conductividad se basó en los criterios de linealidad, precisión y exactitud; mientras que el método de cromatografía líquida de alta resolución se basó en criterios de linealidad, precisión, exactitud, intervalo y especificidad.

## 1. ANTECEDENTES

En el 2010, se presentó la tesis de grado: *Validación del método de limpieza de la envasadora de polvos dos micro después de la producción de bencilpenicilina sódica en Betapharma S. A.*, en Ecuador. En dicho informe se presenta una descripción detallada de la secuencia de pasos específicos para realizar una validación de limpieza de área y de equipo. Según los resultados, la concentración de la bencilpenicilina determinada en todos los puntos críticos del equipo es satisfactoria, siendo menor a 0,001 mg/25 cm<sup>2</sup>.

El porcentaje de recuperación obtenido en cada punto crítico fue mayor a 70 % indicando que el procedimiento fue exitoso. Asimismo, se determinó que la concentración de detergente restante fue de 0,004 ppm, resultado satisfactorio ya que el límite aceptable de residuos que establecieron es de 20 ppm.

En el 2011, se presentó el trabajo de graduación, a nivel de posgrado: *Validación del proceso de limpieza de un área de producción de esteroides inyectables* en la Universidad Central de Caracas, Venezuela. La validación del proceso se trabajó con el componente activo fosfato sódico de dexametasona, que es un potente glucocorticoide sintético y que se asemeja a las hormonas esteroides. Los resultados del estudio indican que el límite de aceptación residual es 0,5 µg/mL y que se obtuvo un porcentaje de recuperación mayor al 80 %, utilizando los métodos de muestreo de enjuague e hisopado, obteniendo un coeficiente de variación de 1,22 % en el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia y una linealidad entre el rango 0,3 – 0,7 µg/mL de concentración.

Finalmente, en la Universidad de San Carlos de Guatemala, en febrero del 2008 se presentó el trabajo de graduación: *Validación de una metodología para la cuantificación simultánea de vitaminas A y E en margarinas por cromatografía líquida de alta resolución* por Rodrigo Alejandro García. Los parámetros utilizados para validar este método analítico fueron de precisión (que se subdivide en repetibilidad y reproducibilidad), exactitud, linealidad, límite de cuantificación, rango de validez, selectividad, robustez y estabilidad en muestras de solución. El resultado fue preciso, ya que se obtuvo una desviación estándar relativa menor al 5 %, además de tener exactitud aceptable.



## **2. MARCO TEÓRICO**

### **2.1. Validación**

La validación se define como el establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados. Los estudios de validación son aplicables a las pruebas analíticas, los equipos, los sistemas y servicios del establecimiento (como aire, agua, vapor) y procesos (como el de fabricación, limpieza, esterilización, llenado estéril, liofilización, entre otros).

Los estudios de validación verifican el sistema en estudio y en condiciones de prueba extremas semejantes a las que cabría esperar durante el proceso, a fin de comprobar que dicho sistema está bajo control. Una vez que el sistema o proceso se ha validado, cabe prever que permanezca bajo control, siempre y cuando no se hagan cambios en el mismo. La validez de los sistemas, equipos, pruebas o procesos se puede establecer mediante estudios prospectivos, concurrentes o retrospectivos. La validación prospectiva se basa en datos recopilados de conformidad con un protocolo previamente establecido.

#### **2.1.1. Validación de un proceso o procedimiento**

Se entiende por proceso una serie de funciones y actividades mutuamente relacionadas en las que intervienen diversas acciones y equipos determinados, que están diseñados para producir un resultado definido.

Para validar la reproducibilidad y consistencia de un proceso, el proceso definido completo se lleva a cabo utilizando equipos validados, de conformidad con el procedimiento establecido, por lo general tres veces como mínimo. El proceso tendrá que satisfacer en forma adecuada y uniforme todos los criterios de aceptación cada vez para que pueda considerarse un proceso validado.

Se aplican las denominadas “peores condiciones posibles” en la validación, a fin de comprobar que el proceso será aceptable en condiciones extremas.

Cada proceso a validar debe ser un proceso específico descrito claramente en la fórmula maestra o en un procedimiento de operación normalizado. Hay que dar los pormenores de todo el equipo, los parámetros de procesado y las especificaciones en cada etapa. Es preciso describir para cada equipo la identidad, los números de código, la construcción, capacidad de operación y los límites efectivos de operación.

Los parámetros de procesado de todas las etapas se describirán con detalles suficientes para permitir la reproducibilidad completa del proceso, cada vez que este se efectúa: periodos de tiempo, valores de pH, volúmenes, temperaturas, mediciones, especificaciones, márgenes aceptables, entre otros. Es imprescindible definir los controles y pruebas, así como sus especificaciones.

En cada etapa habrá que definir los perfiles de pureza de los procesos de producción. Para que un proceso pueda considerarse validado tendrá que cumplir uniformemente todas las especificaciones en todas las etapas del mismo por lo menos en tres ocasiones consecutivas.

Es muy importante que se fijen por adelantado las especificaciones de un proceso sometido a validación. También es importante que durante el estudio de

validación se cuenta con todo el equipo necesario para medir todos los parámetros de procesado críticos cuyas especificaciones se han establecido.

Los estudios de validación de un proceso examinan este en condiciones normales de operación, a fin de comprobar que está bajo control. Una vez que el proceso se ha validado, cabe esperar que siga bajo control, siempre y cuando no se produzcan modificaciones. Si se hacen modificaciones del proceso, si surgen problemas, o si se cambian los equipos o los sistemas que intervienen en el proceso, habrá que revalidar el proceso. Es frecuente que los estudios de validación exijan hacer más mediciones de las que son necesarias para el proceso ordinario.

En la validación se debe comprobar la uniformidad del proceso y, por consiguiente hay que evaluar la eficiencia y la eficacia de cada etapa para producir el resultado previsto.

#### **2.1.1.1. Validación de un procedimiento de limpieza**

La validación (o revalidación) de estos procesos incluye pruebas químicas y microbiológicas de muestras obtenidas en momentos y de sitios determinados con anterioridad dentro de un establecimiento, un sistema o un equipo.

Para la validación de ciertos procesos de limpieza, los equipos o las superficies pueden exponerse a un contaminante adecuado (por ej., solución con hormonas, una cepa microbiana), luego se efectúa el proceso de acuerdo con los procedimientos y las especificaciones aprobados y finalmente se somete a prueba para demostrar la eficacia. La validación incluye la toma de muestras líquidas e hisopados para demostrar la presencia de productos residuales.

Entre las pruebas que suelen efectuarse figuran las siguientes: pruebas de proteínas residuales, pruebas de endotoxinas, pruebas microbianas (carga biológica), pruebas químicas (incluyendo cloro y ácido fosfórico), niveles residuales de agentes limpiadores, pruebas de conductividad y pruebas de pH pertinentes con el proceso de limpieza analizado. Todas las pruebas analíticas habrán de validarse a su vez antes de utilizarse en la validación del proceso.

Al validar un proceso de limpieza, fumigación o desinfección, las dos consideraciones principales son la cantidad del producto activo presente y qué cantidad residual del detergente o agente limpiador se encuentra en el equipo al finalizar el mismo. Sin embargo, son muchas las pruebas que se pueden efectuar para detectar una gama de posibles contaminantes; entre ellas cabe mencionar las siguientes: presencia de microbios y de excipientes, contaminación por endotoxinas y por partículas, agentes desinfectantes, lubricantes, polvo ambiental, contaminación relacionada con el equipo y agua de enjuague residual.

Se deben tener en cuenta las peores condiciones posibles. Por ejemplo, si el agente limpiador residual no se distribuye uniformemente en la superficie de prueba, habrá que escoger con cuidado los puntos de prueba.

El proceso de limpieza puede referirse a la limpieza del material de vidrio, la limpieza del establecimiento (suelos y paredes), limpieza de equipos como la limpieza *in situ* (LIS) o la limpieza en otros sitios (LOS), limpieza de vestimenta de trabajo, entre otros. La esterilización puede ser la esterilización *in situ* (EIS), esterilización del material de vidrio, esterilización de filtros, esterilización con vapor, esterilización con calor seco, entre.

## **2.2. Plan maestro de validación**

El plan maestro de validación es un documento en el que se describe qué equipos, sistemas, métodos y procedimientos habrán de validarse y cuándo lo serán. En el documento deberá especificarse la forma de presentación necesaria para cada documento de validación (certificación de la instalación, operativa y funcional en el caso de equipos y sistemas, validación de procesos y validación de valoraciones analíticas) e indicar qué tipo de información deberá reflejarse en cada documento.

Algunos equipos solo necesitan la certificación de la instalación y operativa, y en diversas pruebas analíticas lo único que se necesita establecer son ciertos parámetros del funcionamiento; esto deberá explicarse en el protocolo maestro, junto con algunos principios sobre como determinar cuáles cualificaciones son necesarias en cada caso, y quién decidirá las validaciones que habrá que realizar.

El plan maestro de validación indicará también por qué y cuándo se efectuarán las revalidaciones, ya sea después de hacerse modificaciones o cambios en la ubicación de equipos o sistemas, de los procesos o equipos usados en la fabricación, o en los métodos de valoración o equipos utilizados en las pruebas.

Si se pone en práctica un nuevo proceso o sistema, puede ser necesaria una certificación del diseño (CDi). Las pautas a seguir en casos como estos deberán incluirse en el plan maestro de validación. Una certificación del diseño sería necesaria al planificar y escoger el equipo o los sistemas, para garantizar que los componentes escogidos tendrán la capacidad adecuada para funcionar

de acuerdo con la finalidad prevista y satisfarán debidamente las necesidades de las operaciones o funciones de otro equipo u operación.

Por ejemplo, un sistema de agua debe producir agua suficiente de determinada calidad para satisfacer los requisitos del establecimiento, incluyendo producción, control y como fuente de vapor o para abastecer otro sistema productor de agua de mayor calidad; un generador de vapor debe producir vapor suficiente de la calidad correcta para satisfacer todas las necesidades de esterilización por autoclave y procedimientos de limpieza mediante vapor *in situ* (VIS) del establecimiento; o el equipo escogido para una operación particular deberá tener espacio y acceso suficientes para efectuar debidamente las operaciones de limpieza y mantenimiento.

El orden en que cada parte del establecimiento será validada habrá de especificarse en el plan maestro de validación. Por ejemplo, el sistema de agua se validará antes de hacerlo con un equipo que utilice dicho sistema. La CI, la CO y la CF tendrán que realizarse en orden: el plan maestro de validación indicará cómo abordar cualquier desviación de estas cualificaciones, e indicará el intervalo permitido entre cada validación.

### **2.2.1. Limpieza de áreas y equipos**

La empresa productora de fármacos debe tener criterios de limpieza establecidos y un procedimiento apropiado para la validación de limpieza, que contemple:

- Superficies que tienen contacto con el producto.

- Limpieza posterior a un cambio de producto (cuando una formulación farmacéutica se esté cambiando por otra formulación, completamente diferente).
- Entre lotes, en campañas (cuando se esté fabricando una fórmula durante un periodo de tiempo, y en diferentes días).
- Agrupación (*bracketing*) de productos para la validación de limpieza (esto a menudo surge cuando los productos contienen sustancias con propiedades similares (tales como solubilidad) o la misma sustancia en diferentes potencias. Una estrategia admisible es fabricar primero la forma más diluida (no necesariamente a la menor dosis) y luego la forma más concentrada. En oportunidades hay “familias” de productos que difieren levemente en cuanto a ingredientes activos o excipientes.).
- Evaluación y revalidación periódica del número de lotes fabricados entre las validaciones de limpieza.

Deben realizarse al menos tres aplicaciones consecutivas del procedimiento de limpieza, y demostrar ser exitosas, para comprobar que el método está validado.

### **2.2.2. Límite de aceptación de residuos**

Los criterios de aceptación establecidos para los niveles de contaminantes en la muestra deben ser prácticos, factibles y comprobables. La justificación de los límites de residuos establecidos debe ser lógica y basada en el conocimiento de los materiales involucrados. Cada situación debe ser evaluada individualmente.

El límite de aceptación de residuos establece la cantidad máxima de residuos de los productos anteriores, o del propio proceso de limpieza (por ejemplo, detergentes o disolventes).

El enfoque de la determinación de límites puede:

- Ser específico por producto.
- Agrupar productos en familias y elegir el producto considerado el peor caso.
- Agrupar productos de acuerdo con el riesgo, por ejemplo, productos muy solubles, productos con potencia similar, muy tóxicos, o difíciles de detectar.
- Utilizar diferentes factores de seguridad para diferentes formas de dosificación con base en la respuesta fisiológica (este método es esencial para materiales de alta potencia).

Los límites pueden ser expresados como una concentración en el producto siguiente (partes por millón), límite por superficie de área (microsiemes sobre centímetros cuadrados) o en el agua de enjuague como partes por millón. La sensibilidad de las metodologías analíticas debe ser definida para permitir que se establezcan límites razonables.

Los principales criterios de aceptación son: inspección visual, dosis terapéutica, información toxicológica y criterio de 10 partes por millón.

### **2.2.2.1. Inspección visual**

La detección visual a pesar de ser un método subjetivo por naturaleza, y no cuantitativo, se utiliza como primer criterio de la investigación y como complemento de los otros criterios usados, en caso de requerirlo debe desarmar el equipo para una inspección más exhaustiva. Si el equipo no se encuentra



visiblemente limpio, no se deben efectuar los ensayos posteriores, ya que un residuo visible indica un procedimiento de limpieza inadecuado.

#### **2.2.2.2. Dosis terapéutica**

No más de 0,1 % de la dosis terapéutica normal de un producto aparecerá en la máxima dosis diaria de un producto posterior. El uso de la dosis terapéutica o farmacológica como base para el cálculo del límite de aceptación es útil para situaciones donde el material es un ingrediente activo con niveles de dosis terapéuticas conocidas. Existen casos donde no se cuenta con la dosis del residuo como, por ejemplo, en la producción de medicamentos en fase de investigación, donde todavía la dosis del principio activo o el producto terminado no ha sido completamente establecida.

#### **2.2.2.3. Información toxicológica**

Otro enfoque para la determinación del límite de aceptación permisible usa los datos de toxicidad. Esta estrategia es usada generalmente en la industria cuando se trata de contaminantes para los que las dosis terapéuticas no son conocidas (por ejemplo, productos intermedios, los precursores, y productos de limpieza). Para muchos fármacos, el usar un factor de seguridad de 0,1 % de la dosis terapéutica recomendada más baja puede ser razonable y producirá valores de aceptación permisible en un nivel seguro.

El efecto tóxico de una sustancia en el cuerpo humano se estima a través de la toxicidad en animales. Así, LD<sub>50</sub> es la dosis letal media o toxicidad aguda en animales. Usualmente se expresa en miligramo (mg) por kilogramo (kg) de peso del animal.

#### **2.2.2.4. Criterio de 10 partes por millón (10 ppm)**

No más de 10 ppm de un producto aparecerá en otro. Se trata de un límite socorrido que puede utilizarse cuando aún no se han establecido otros criterios más adecuados para controlar el residuo.

El valor de 10 ppm, considerado como límite por defecto, es también en cierto sentido un máximo aceptable de límite residual en el caso que el límite calculado basado en la dosis estándar L1 (0,001 de la dosis mínima del principio activo en la dosis máxima del próximo producto) sea superior a este valor de 10 ppm.

#### **2.2.3. Procedimiento de limpieza estándar**

La industria debe tener criterios de limpieza establecidos y un procedimiento apropiado para la validación de limpieza,

El procedimiento estandarizado de limpieza debe contemplar:

- Superficies que tienen contacto con el producto.
- Limpieza posterior a un cambio de producto (cuando una formulación farmacéutica se esté cambiando por otra formulación, completamente diferente).
- Entre lotes, en campañas (cuando se esté fabricando una fórmula durante un periodo de tiempo, y en diferentes días).
- Agrupación (*bracketing*) de productos para la validación de limpieza (esto a menudo surge cuando los productos contienen sustancias con propiedades similares (tales como solubilidad) o la misma sustancia en diferentes potencias. Una estrategia admisible es fabricar primero la forma más diluida

(no necesariamente a la menor dosis) y luego la forma más concentrada. En oportunidades hay “familias” de productos que difieren levemente en cuanto a ingredientes activos o excipientes.).

- Evaluación y revalidación periódica del número de lotes fabricados entre las validaciones de limpieza.

#### **2.2.4. Selección del peor caso**

Condición o conjunto de condiciones que abarca los límites superiores e inferiores de un proceso, para parámetros y circunstancias de operación, incluidas en los procedimientos operativos estándar, que tienen la mayor probabilidad de fallar en un producto o proceso, al ser comparado con las condiciones ideales. Tales condiciones no incluyen necesariamente fallas en el producto o en el proceso.

Para seleccionar el peor caso se deben de determinar los puntos de difícil acceso, el tamaño máximo del lote y el lote a continuación mínimo, el principio activo más tóxico o insoluble y la evaluación en el tiempo máximo.

##### **2.2.4.1. Puntos críticos de muestreo**

Considerando los principios activos del peor caso y los equipos utilizados en planta, deben establecerse las locaciones a desafiar durante los ensayos de validación: aquellas locaciones de equipos más difíciles de lavar y cuya superficie tenga contacto directo con el producto.

Para determinar la ubicación de los puntos de muestreos se debe considerar la composición de los equipos (por ejemplo vidrio o acero inoxidable) y su ubicación (por ejemplo, aspas, paredes de estanques o accesorios (*fittings*)).

Se deben considerar las ubicaciones “peor caso”. El protocolo debe identificar la ubicación de los puntos de muestreo.

Deben identificarse las zonas críticas, es decir, las más difíciles de limpiar, especialmente en los grandes sistemas que emplean sistemas de limpieza en sitio (*clean in place*) semiautomáticos o completamente automáticos.

El criterio de selección de las locaciones “peor caso” para equipos está basado en:

- Dificultad de acceso a la locación
- Superficies no lisas
- Material de construcción diferente al acero inoxidable
- Geometría del equipo

Se deben ubicar las locaciones que se encuentran en un plano del equipamiento o en fotografías, a fin de poder identificarlas adecuadamente.

### **2.2.5. Métodos de muestreo**

Es un método establecido y definido a través del cual se toman las muestras que serán analizadas con las valoraciones analíticas.

La práctica de remuestreo no debe utilizarse antes o durante la limpieza y operaciones, y solo es aceptable en casos excepcionales. Un constante reanálisis y remuestreo puede indicar que el proceso de limpieza no está validado, porque en realidad estos reanálisis documentan la presencia de residuos y contaminantes inaceptables, que resultan de un proceso de limpieza ineficaz.

### **2.2.5.1. Método de hisopado**

Este método de muestreo es el más comúnmente usado e implica la utilización de un material inerte (por ejemplo, algodón hidrófilo) en el extremo de un asa, se refiere a un "hisopo" que se frota metódicamente en la superficie. Es importante el tipo de material de muestreo utilizado y su posible impacto en los resultados de los análisis, ya que el material utilizado puede interferir con el análisis.

Los factores que deben ser considerados incluyen: el área hisopada, número de hisopos utilizados, si estos son húmedos o secos, manipulación de los hisopos y las técnicas de hisopado.

### **2.2.6. Métodos o valoraciones analíticas**

La validación de valoraciones (ensayos) analíticas es el proceso por el cual se establecen una o varias de las siguientes propiedades del tipo de valoración correspondiente: exactitud, precisión, linealidad, intervalo, límite de detección, límites de cuantificación, especificidad y robustez. Los métodos fisicoquímicos tienen límites definidos aceptados para estos parámetros de prueba.

#### **2.2.6.1. Método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia**

Entre las técnicas cromatográficas cuya fase móvil es un líquido, la cromatografía líquida de alta eficiencia es la más utilizada. 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.

Cuando se desarrolla un método analítico, se debe validar para tener la seguridad de que los resultados estén bien. Para que todo el proceso se lleve a cabo con éxito los materiales y los equipos deben estar certificados y estandarizados, así se garantiza que el procedimiento se está realizando de la mejor manera; también se debe de documentar el procedimiento que se realiza para la preparación de las muestras, la dilución y la utilización de los equipos.

### **2.2.6.2. Método analítico de conductividad**

La conductimetría es un método analítico basado en la conducción eléctrica de los iones en solución, que se utiliza para medir la molaridad de una disolución determinada por su carga iónica, de gran movilidad entre dos puntos de diferente potencial. La conductividad eléctrica es un fenómeno de transporte en el cual la carga eléctrica (en forma de electrones o iones) se mueve a través de un sistema.

#### **2.2.6.2.1. Fundamento**

La conductividad es una medida de la capacidad de una solución acuosa para transportar una corriente eléctrica. Esta capacidad depende de la presencia de iones disueltos, sus concentraciones absolutas y relativas, su movilidad y su valencia y de la temperatura y viscosidad de la solución. Este parámetro sirve para estimar el contenido total de constituyentes iónicos. La medición física practicada en una determinación en el laboratorio suele ser de resistencia medida en ohmios. En el Sistema Internacional de Unidades el recíproco del ohmio es el siemens (S) y la conductividad se expresa en milisiemens por metro (mS/m).

#### **2.2.6.2.2. Procedimiento**

Es mejor tomar la medida en el lugar donde se encuentra el material a analizar, pero si es necesario colectarlas es preferible hacerlo en frascos plásticos; de utilizar envases de vidrio, evitar que sean de vidrio sódico. Los frascos deben quedar bien cerrados y llenos para evitar el intercambio de gases. No se conoce agente de conservación adecuado. Las medidas deben hacerse lo antes posible una vez recogida la muestra, aunque estas pueden conservarse hasta 28 días en refrigeración.

Se introduce la célula de conductividad en la muestra y se espera hasta que la lectura se estabilice (pocos segundos). Si se utiliza un conductímetro de lectura digital, la medida directa de la conductividad de la muestra aparece en la pantalla.

Es recomendable utilizar equipos que tengan compensación de temperatura; en el caso contrario habría que efectuar dicha compensación manualmente.

#### **2.2.6.3. Parámetros para validar métodos analíticos**

Para que los métodos analíticos sean validados, estos deben cumplir ciertos parámetros. Dependiendo de la naturaleza del método analítico los parámetros pueden variar. Para el método de conductividad se analiza la linealidad, exactitud y precisión; para el método de cromatografía líquida de alta eficacia, además de los mencionados, se analiza la especificidad y el intervalo.

La linealidad del método es la relación entre la respuesta del instrumento y concentraciones conocidas de analito. Mientras que la precisión del método analítico describe la cercanía (grado de dispersión) entre una serie de medidas

obtenidas de múltiples repeticiones de una muestra bajo las condiciones de análisis establecidas. La exactitud describe el grado de dispersión del valor obtenido respecto del valor nominal o conocido bajo las condiciones de análisis establecidas.

La selectividad es la capacidad del método analítico de diferenciar el analito en presencia de otros componentes de la muestra. Dichos componentes pueden ser metabolitos, impurezas, productos de degradación o componentes de la matriz.

La recuperación de un analito se refiere a la eficiencia de la extracción en un proceso analítico. Se reporta como porcentaje de analito obtenido luego del proceso de extracción. El intervalo es el ámbito o rango entre la menor y la mayor concentración donde se ha demostrado que el procedimiento analítico tiene el nivel adecuado de precisión, exactitud y linealidad.

### **2.2.7. Fecha de caducidad de la limpieza**

Con el fin de determinar la validez de la limpieza en el transcurso del tiempo se deben de evaluar los equipos, utilizando el método de recuperación por hisopado, durante 7 días consecutivos. Se establece como máximo el control hasta 7 días, debido a que históricamente este tiempo supera el período en donde cualquier equipo de planta permanece sin uso.

Se debe repetir este mecanismo 3 veces, con la siguiente frecuencia:

- $T_0$  = fecha de limpieza
- $T_3$  = 3 días posteriores a la fecha de limpieza
- $T_5$  = 5 días posteriores a la fecha de limpieza



- $T_7 = 7$  días posteriores a la fecha de limpieza

La fecha de vencimiento de la limpieza es el  $T_x$ ; en este, ningún resultado debe superar el criterio de aceptación.

### **2.2.8. Control de cambios y desvíos**

Un estudio de certificación/validación está diseñado para parámetros definidos y mide resultados específicos. Cualesquiera modificaciones hechas a equipos, sistemas, procesos o procedimientos pueden cambiar los parámetros o afectar los resultados previstos. Por consiguiente, todo cambio que se haga después de haber efectuado la validación inicial deberá controlarse. El “control de los cambios” debe ser un proceso formal que se ciña a un procedimiento determinado con anterioridad en un documento de garantía de la calidad (por ejemplo, un PON de GC o el plan maestro de validación).

El procedimiento de control de los cambios incluirá la planificación y presentación de una propuesta de cambio, en la que se indique la justificación de este y se calculen sus repercusiones sobre la función, la operación y el funcionamiento.

La propuesta será preparada por el departamento que solicite el cambio y examinada y aprobada por los departamentos de GC, la gerencia y otros departamentos según corresponda. Se indicarán los efectos del cambio sobre el sistema/proceso específico correspondiente, así como las consecuencias más amplias para otros sistemas y procesos del establecimiento. Dependiendo de la importancia del cambio, puede ser necesaria la revalidación del sistema/proceso o de otros sistemas. No se harán cambios en ningún equipo, sistema, prueba o

proceso aprobado y validado, sin antes obtener el examen y la aprobación oficiales mediante el procedimiento de control de los cambios.

Cualquier cambio que modifique las condiciones bajo las cuales se validó la limpieza de los equipos y áreas, amerita que el mismo entre bajo el sistema de control de cambios para determinar una revalidación.

Cuando los cambios no produzcan modificaciones en los límites establecidos o en los productos “peor caso”, la validación se mantendrá vigente, y se cubrirá la necesidad de la misma, con una revisión que demuestre que no afecta el estado validado. De lo contrario, amerita una revalidación.

Bajo la premisa de continuar con el estudio de validación de limpieza con base en el criterio “peor caso”, incluir en la tabla de cálculos y solubilidades, las drogas nuevas colocadas en planta de acuerdo con los mismos criterios usados en esta validación. De no encontrarse variación en el activo “peor caso” la validación de limpieza realizada, sigue vigente.

Todo desvío debe ser documentado, justificado, sometido a revisión y sujeto a acción correctiva, seguimiento y aprobación.

### **2.2.9. Revalidación**

Para revalidar se debe determinar si es necesario efectuar una nueva validación completa o una revalidación parcial que afecte a parte del sistema.

Dado a que en la manufactura se van sucediendo pequeños cambios que no se detectan fácilmente o que tal vez no fueron considerados adecuadamente en la validación, se establece un período de revisión de la validación y la

correspondiente revalidación, limitada generalmente solo a algunos aspectos críticos o representativos de la original.

Se debe revalidar cada 5 años efectuando tres análisis consecutivos al activo “peor caso”. Será necesaria la revalidación, siempre que cualquiera de los siguientes ítems modifique el límite de aceptación determinado y el producto peor caso:

- Si los análisis de validación anteriormente realizados indicaran trazas de residuos en valores superiores al nuevo límite de aceptación.
- Cambios o sustituciones de equipos o piezas cuya superficie se encuentre en contacto con el producto a procesar; como por ejemplo juntas, válvulas mangueras de conexión, entre otros.
- Cambio en el procedimiento de limpieza (proceso, detergentes, entre otros).
- Incorporación de algún nuevo producto que se procesará en el equipo ya validado y que el mismo se evidencie como activo peor caso según matriz de equipos.

De existir algún cambio no mencionado en este párrafo, el mismo debe ser evaluado por el equipo de validación de limpieza antes de su implementación.

#### **2.2.10. Protocolo e informe final de validación**

La validación de limpieza debe ser descrita en protocolos de validación, los cuales deben ser formalmente aprobados por la unidad de control de calidad o de aseguramiento de calidad.

Un protocolo es un conjunto de instrucciones por escrito cuyo alcance es mayor que el de un procedimiento de operación normalizado (PON). Los PON

son las instrucciones detalladas por escrito para efectuar procedimientos que se efectúan normalmente en el curso de cualquiera de las actividades relacionadas con la fabricación de productos farmacéuticos. Por el contrario, un protocolo describe los detalles de un estudio integral planificado para investigar el funcionamiento uniforme de un nuevo sistema/equipo, un nuevo procedimiento o la aceptabilidad de un nuevo proceso antes de ejecutarlo.

Para la preparación del protocolo de validación de limpieza, se debe considerar el desensamblaje del sistema, la prelimpieza, los agentes de limpieza, concentración, volumen de solución, calidad del agua, el tiempo y temperatura, la velocidad de flujo, presión y enjuague, la complejidad y diseño del equipo, la capacitación de operarios y el tamaño del sistema.

Los protocolos incluyen antecedentes importantes, explican el fundamento lógico y el objetivo del estudio, ofrecen una descripción completa de los procedimientos que habrán de seguirse, fijan los parámetros que habrán de medirse, describen cómo se analizarán los resultados y facilitan criterios de aceptación determinados con anterioridad para extraer las conclusiones. Los estudios de validación, de estabilidad y clínicos son ejemplos de protocolos escritos para la industria farmacéutica. Los protocolos de validación son importantes para asegurar que se recaben pruebas documentadas a fin de demostrar que un equipo, un sistema, un proceso o un método se desempeñan uniformemente de conformidad con el nivel especificado.

El protocolo de validación de limpieza debe incluir los objetivos del proceso de validación, las personas responsables de realizarlo y aprobar el estudio de validación; la descripción de los equipos a usar, incluyendo un listado de equipos, marca, modelo, número de serie u otro código único, el intervalo entre el término de producción y el comienzo del procedimiento de limpieza (el intervalo puede

ser parte del estudio desafío de la validación propiamente), el período máximo que un equipo puede dejarse sucio antes de ser limpiado, así como el establecimiento del tiempo que debe transcurrir después de la limpieza y antes de ser usado.

También debe de incluir los niveles de microorganismos (*bioburden*), los procedimientos de limpieza (documentados en un POS existente, incluyendo definición de cualquier proceso automatizado) a ser usados para cada producto, cada sistema de fabricación o cada parte de un equipo.

Todos los equipos utilizados para el monitoreo de rutina, el número de ciclos de limpieza a ser ejecutados consecutivamente, los procedimientos de muestreo a ser usados (muestro directo, muestreo por enjuague, monitoreo en proceso y ubicación de los puntos de muestreo) y la justificación para su uso, los datos de los estudios de recuperación (debe establecerse la eficiencia de la recuperación de la técnica de muestreo), la metodología analítica (especificidad y sensibilidad) incluyendo los límites de detección y de cuantificación, los criterios de aceptación (justificando la determinación de límites específicos) incluyendo un margen de error y de eficiencia de muestreo.

Deben mantenerse los registros de limpieza relevantes (firmados por el operario, verificado por producción y revisado por garantía de calidad) y la fuente de los datos (resultados originales). Los resultados de la validación de limpieza deben ser presentados en informes de validación de limpieza, indicando la discusión del resultado y la conclusión.

El informe final de validación debe incluir para cada ciclo lo siguiente: fecha de inicio del estudio, fecha de finalización, observaciones efectuadas, problemas encontrados, integridad de la información recogida, resumen del informe de

desviaciones de las pruebas y los análisis estadísticos, concordancia de los resultados con los criterios de aceptación, ubicación de los datos originales y otra información pertinente al estudio.

Se deben formular las conclusiones respecto de la validez del proceso en cada ciclo individual y en los tres ciclos consecutivos de validación.

Para el informe final se deberá:

- Evaluar 3 veces el proceso completo con respecto a los procedimientos de operación normalizados.
- Registrar los datos necesarios.
- Efectuar las pruebas ordinarias y los resultados deben de ser aprobados por control de calidad.
- Anexar formularios para el registro de los datos.
- Efectuar los cálculos y el análisis estadístico.
- Comparar los resultados obtenidos con el criterio de aceptación establecido.
- Realizar informe de desviaciones (justificación de la aceptación y repercusión sobre el proceso).
- Plantear las conclusiones.
- Por último, realizar el informe final de la validación del proceso.

### **2.3. Betametasona dipropionato**

Aproximadamente 1,3 mg de betametasona dipropionato equivalen a 1 mg de betametasona (base).

### **2.3.1. Datos físicoquímicos**

Polvo cristalino blanco o casi blanco. Prácticamente insoluble en agua, fácilmente soluble en acetona y en cloruro de metileno, bastante soluble en etanol al 96 %. Punto de fusión: 170-179 °C. Rotación óptica: +65,7° (dioxano). Absorción UV máxima: 238 nm (metanol).

### **2.3.2. Propiedades y usos**

Corticosteroide de potente acción vasoconstrictora, que se convierte en betametasona en el organismo. Posee una mayor solubilidad en lípidos que la betametasona, por lo que es más conveniente para la terapia tópica, empleándose en el tratamiento de diversos eczemas (de contacto, microbiano, varicoso, atópico, seborreico), psoriasis, lupus eritematoso discoide, granuloma anular, líquen plano, neurodermatitis localizada, prurito anogenital y picaduras de insecto.

Es termolábil, por lo que debe incorporarse a las formulaciones en frío. También es fotosensible.

### **2.3.3. Dosificación**

Se usa tópicamente en forma de semisólidos para las dermatosis húmedas, lociones y también pomadas para las lesiones crónicas (psoriasis, eccema atópico), a una concentración de 0,05-0,2 %. Para el lupus eritematoso discoide, al 0,05 %, se puede aumentar la dosificación a 0,5 % en tratamientos cortos. La utilización de excipientes oclusivos incrementa su acción (aumentan su absorción cutánea).

Puede adicionarse neomicina sulfato 0,1 % en las dermatosis microbianas.

#### **2.3.4. Efectos secundarios**

Las terapias tópicas de larga duración pueden producir alteraciones atróficas en la piel, ocasionando destrucción del colágeno, estrías dérmicas, hipertrichosis, telangiectasia y desórdenes pigmentarios. En aplicación con vendaje oclusivo o en tratamientos prolongados pueden aparecer reacciones adversas sistemáticas.

#### **2.3.5. Contraindicaciones**

Está contraindicado en alergia a los corticoides, infecciones de origen vírico (como la varicela, herpes simple y herpes zóster), y procesos tuberculosos o luéticos en la zona de tratamiento.

No debe aplicarse en tratamiento ocular ni zonas próximas a los ojos. En el embarazo y en pediatría ha de evitarse su empleo en zonas extensas, a altas concentraciones o en terapias prolongadas.

#### **2.4. Agente tensoactivo**

Son las sustancias capaces de reducir la tensión superficial del medio en que están disueltas o la tensión superficial con otras fases, o ambas. La moléculas tensoactivas tienen una parte larga no polar (parte hidrofóbica) que se extiende dentro de un medio no polar, y un “grupo cabeza” iónico polar (parte hidrofílica) que se extiende en un medio polar, como el agua.



### **2.4.1. Clasificación de los tensoactivos**

Su clasificación se basa en el poder de disociación del tensoactivo en presencia de un electrolito y de sus propiedades fisicoquímicas, pueden ser: iónicos o no iónicos.

#### **2.4.1.1. Tensoactivos iónicos**

Los tensoactivos iónicos tienen fuerte afinidad por el agua y debido a su atracción electrostática hacia los dipolos de la misma, pueden arrastrar consigo a las soluciones de cadenas de hidrocarburos. Dentro de los iónicos, según la carga que posea la parte que presenta la actividad de superficie serán: aniónicos, catiónicos y anfóteros.

- Los tensoactivos aniónicos: en solución se ionizan, pero considerando el comportamiento de sus grupos en solución, el grupo hidrófobo queda cargado negativamente.
- Los tensoactivos catiónicos: son aquellos que en solución forman iones, resultando cargado positivamente el grupo hidrófobo de la molécula. En general son compuestos cuaternarios de amonio o una amina grasa en medio ácido.
- Los tensoactivos anfóteros: actúan dependiendo del medio en que se encuentren, en medio básico son aniónicos y en medio ácido son catiónicos.

#### **2.4.1.2. Tensoactivos no iónicos**

Los surfactantes o tensoactivos no iónicos son aquellos que son ionizantes, se solubilizan mediante un efecto combinado de un cierto número de grupos solubilizantes débiles (hidrófilos) tales como un enlace tipo éter o grupos hidroxilos en su molécula.

### 3. DISEÑO METODOLÓGICO

#### 3.1. Variables

A continuación se presentan las variables independientes y dependientes con las que se trabajó la investigación:

- Variables independientes
  - Concentración en partes por millón de la solución de agente tensoactivo para la validación del método de conductividad (5, 10, 15, 20 y 25 ppm): para validar este método analítico se realizó una curva en la que se presenta la conductividad de las soluciones para cada concentración. Se eligieron 5 concentraciones diferentes con el fin de obtener una linealidad, precisión y exactitud. Se demostró la validez de este método mediante cálculos estadísticos.
  - Porcentaje de concentración de betametasona para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia (50, 75, 100, 125 y 150 %): para validar este método se realizaron pruebas en donde se varía la concentración de betametasona presente en la muestra y se compararon a un placebo. Se eligieron 5 concentraciones diferentes para obtener linealidad, exactitud, precisión, intervalo y especificidad.
  - Conductividad (microsiemes sobre centímetros cuadrados) en las muestras tomadas del área y del equipo posterior a un procedimiento

de limpieza: las muestras tomadas fueron analizadas y estas debieron presentar una conductividad menor a la establecida en la validación del método analítico para que la solución tenga una concentración menor de 10 partes por millón.

- Porcentaje de área (porcentaje) en las muestras tomadas del área y del equipo posterior a un procedimiento de limpieza: muestras obtenidas del equipo y del área presentaron concentraciones de betametasona menor al límite aceptable de residuos, calculado por el método de 10 partes por millón.
  
- Variables dependientes
  - Conductividad (microsiemes sobre centímetros cuadrados) en la validación del método analítico: la conductividad tuvo variación según la concentración de agente tensoactivo en agua purificada. Para validar el método analítico se midió la conductividad de un blanco y después, la de cinco soluciones a diferentes concentraciones específicas. Así se determinó el valor de la conductividad para cada concentración de agente tensoactivo.
  
  - Porcentaje de áreas (porcentaje) obtenidas en los cromatogramas en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia: El porcentaje de área obtenido dependió de la concentración de betametasona en la solución y se calculó con la integración de la curva obtenida de la absorbancia en función de tiempo de retención.

### **3.2. Delimitación de campo de estudio**

El estudio se centra en la validación de un procedimiento de limpieza de área y uno de equipo previamente estandarizados. Se determinó y analizó la concentración de la betametasona y de agente tensoactivo en las muestras tomadas del área y equipo específicos, posterior a la limpieza.

Para cuantificar las trazas de betametasona presentes en las muestras se utilizó el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia. Para analizar la concentración de agente tensoactivo presente se utilizó el método analítico de conductividad. Los resultados de concentración obtenidos deben ser menores al límite aceptable determinado.

Para el análisis cromatográfico se tomó una muestra en la pared, una muestra en el piso y 5 muestras en el equipo con hisopos de madera y algodón. Asimismo, se tomó una muestra previa a la limpieza y se analizó un blanco. Para el análisis de conductividad se tomaron dos muestras de un volumen definido en el equipo y una en el área.

Los procedimientos de limpieza y la toma de muestras se realizaron en el equipo de emulsificación *Vacuum emulsification system* modelo TRZRJ-150L-D y en el área de producción de semisólidos en la planta del laboratorio y droguería Pharmalat, S. A. en Villa Nueva, Guatemala. Los análisis se realizaron en el laboratorio de control de calidad de la empresa.

Asimismo, las materias primas, ingredientes activos, insipientes, agentes de limpieza y detergentes utilizados son los que se utilizan actualmente en la planta central Pharmalat, S. A.

### **3.3. Recursos humanos disponibles**

Investigador: Lourdes Andrea González López

Asesora: Inga. Qca. MSc. Claudia Calderón

Coasesor: Lic. Qb. MSc. Gerbert Solis

### **3.4. Recursos materiales disponibles**

A continuación se enlista la cristalería, equipo y reactivos necesarios para realizar la presente investigación.

#### **3.4.1. Cristalería y equipo**

La cristalería y equipo necesario se subdivide de acuerdo al método analítico utilizado.

##### **3.4.1.1. Cromatografía líquida de alta eficacia**

- Balanza analítica Ohaus Adventurer
- Micro espátula
- Balones volumétricos de 50,0 mL
- Pipetas volumétricas de 5 mL
- Pipetas volumétricas de 10 mL
- Agitador magnético Thermoline
- Magnetos
- Ultrasonido Branson
- *Beaker* de 500 mL
- Bomba de Vacío GAST
- Filtros minisart RC 15 de 0,22  $\mu\text{m}$

- Equipo cromatográfico de alta resolución (HPLC) Vwr Hitachi Elite LaChrom
- Columna LiChrospher 100 RP-18 125\*5 mm (5 µm)
- Hisopos de madera
- Tubos plásticos con tapa de rosca, de al menos 30 mL de capacidad

#### **3.4.1.2. Conductividad**

- Conductímetro
- Balón volumétrico de 500 mL
- Recipientes plásticos de 500 mL : 25
- Varilla de vidrio de agitación
- Probeta 25 mL : 0,5
- Succionadores de plástico

#### **3.4.2. Reactivos**

- Estándar de betametasona dipropionato
- Agua para cromatografía líquida de alta eficacia
- Metanol para cromatografía líquida de alta eficacia
- Ácido fosfórico 10 %
- Metanol GR
- Agua desmineralizada
- Agua para lavado del punto de muestreo (blanco)

### **3.5. Técnica cuantitativa**

A continuación se describe la validación de los dos métodos analíticos utilizados y la evaluación de la concentración presente de betametasona.

### **3.5.1. Validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia**

Para la validación del método de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) en función de la concentración (50, 75, 100, 125 y 150 % de la concentración establecida en el método de cuantificación para cada analito), utilizar la siguiente técnica cuantitativa:

#### **3.5.1.1. Determinación de especificidad del método**

- Preparar una solución “a”. Esta preparación está constituida por una cantidad de estándar del analito betametasona dipropionato equivalente a betametasona a la concentración estipulada.
- Preparar una solución “b”. Esta preparación está constituida por la mezcla de los componentes de la matriz de la muestra sin el principio activo a determinar (placebo); a la misma concentración relativa con el estándar del analito o principio activo.

Analizar, por comparación de los resultados instrumentales, las dos preparaciones. En la comparación entre la preparación “a” y “b”, no se debe presentar ningún tipo de señal o reacción que interfiera con la que corresponda a la esperada para el estándar de analito en la preparación “a”; esto para poder considerar al método como específico.

#### **3.5.1.2. Determinación de linealidad, exactitud y precisión del método**

- Preparar soluciones de placebo enriquecido con estándar de betametasona dipropionato equivalente a betametasona, a cinco diferentes niveles de



concentración: 50, 75, 100,125 y 150 % de la concentración establecida en el método de cuantificación para cada analito.

- Las diluciones de placebo enriquecido con estándar se cuantifican por el sistema de análisis especificado en el procedimiento de ensayo.
- Realizar todas las diluciones por triplicado.
- Trazar la preparación equivalente al 0 % de concentración, en la gráfica con los resultados del análisis de la preparación “b”; según se describe en el procedimiento de especificidad, también por triplicado.

Según la la USP <1225> y la ICH Q2(R1) el valor del coeficiente de correlación obtenido para la linealidad debe encontrarse entre 0,98 a 1,00. Bajo estas mismas normas, el porcentaje de recuperación obtenido para la exactitud del método, debe ser de  $100 \pm 2$  % esto es equivalente al 2 % de error relativo. Al graficar la cantidad de analito recuperado contra la cantidad adicionada, debe obtenerse un coeficiente de correlación ( $R^2$ ) cercano a 1, una pendiente cercana a 1 y el intercepto con valor cercano a 0. Para la precisión el coeficiente de variación no debe ser mayor al 2,0 %.

### **3.5.2. Validación del método analítico de conductividad**

Para la validación del método de conductividad en función de concentración de agente tensoactivo en agua purificada (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm, 25 ppm), se utilizará la siguiente técnica cuantitativa:

#### **3.5.2.1. Determinación de linealidad, exactitud y precisión del método**

- En un recipiente plástico, tomar una muestra de 25 mL de la solución de agente tensoactivo;

- Preparar soluciones de jabón tensoactivo y agua desmineralizada de 5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm y 25 ppm en *beackers* de 500 mL;
- En un recipiente plástico de 500 mL, tomar una muestra de 250 mL del agua purificada que se utilizó para preparar las soluciones, este será el blanco;
- Colocar la sonda del conductímetro dentro del frasco del blanco;
- Anotar la conductividad y la temperatura obtenida del blanco;
- Medir la conductividad de las soluciones desde la menos concentrada a la más concentrada (5 ppm, 10 ppm, 15 ppm, 20 ppm y 25 ppm);
- Tomar la muestra correspondiente, colocar la sonda del conductímetro dentro del frasco;
- Esperar el resultado, anotar la conductividad y la temperatura específica de la muestra.

Realizar este procedimiento con el blanco de medición y con las muestras, asegurándose que la sonda se encuentre a una profundidad suficiente que permita obtener la lectura correspondiente. Repetir este procedimiento tres veces consecutivas. Según la USP <1225> y la ICH Q2(R1) El método es validado hasta que el porcentaje de coeficiente de variación sea menor al 3 %; el valor del coeficiente de correlación obtenido para la linealidad debe encontrarse entre 0.98 a 1.00 y el porcentaje de recuperación obtenido para la exactitud del método, debe ser de  $100 \pm 2$  % esto es equivalente al 2 % de error relativo.

### **3.5.3. Evaluación de la concentración de betametasona presente en el área y equipo**

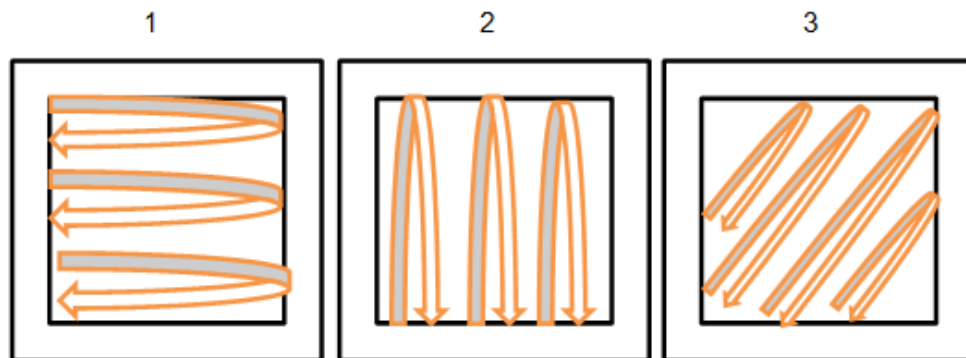
Para la evaluación de la concentración de betametasona en el área de producción de semisólidos y en el equipo de emulsificación por el método de cromatografía líquida de alta resolución se utilizará la siguiente técnica cuantitativa:

- Reconocer los puntos de muestreo establecidos para el efecto.
- Tomar las muestras en el área y en el equipo como se describe a continuación:

### 3.5.3.1. Para superficie plana

- Colocar la plantilla de muestreo en la superficie elegida para la toma de muestra;
- Sacar con cuidado el hisopo humedecido con metanol que se encuentra en los tubos de muestreo;
- Frotar el hisopo sobre dicha superficie, únicamente en el espacio interno de la plantilla, describiendo el patrón de movimiento que se muestra en la figura siguiente en el menor tiempo posible.

Figura 1. **Técnica de muestreo para el análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia en superficies planas**



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD.

### 3.5.3.2. Para tubería

- Sacar con cuidado el hisopo humedecido con metanol que se encuentra en los tubos de muestreo.
- Frotar el hisopo sobre dentro del espacio interno de la tubería introduciéndolo hasta la marca colocada en el mango, describiendo el patrón de movimiento que se indica a continuación.
- Iniciar en el interior del tubo hacia afuera, hasta la marca con movimiento en contra sentido de las agujas del reloj.

Figura 2. **Técnica de muestreo para el análisis de cromatografía líquida de alta eficiencia en tuberías**



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD.

- Regresar el hisopo a su tubo original, descargando su contenido con 5 movimientos rotatorios suaves, presionarlo sobre la pared interna del tubo, luego cerrar bien la tapa. Agitar suavemente 5 veces;
- Identificar el tubo de muestreo con los siguientes datos: número de muestra, punto de muestreo y fecha;
- Trasladar los tubos al área de análisis;
- Colocar el tubo con el hisopo de muestreo en baño de maría a 60 °C por 5 minutos, enfriar;

- Filtrar con filtros minisart RC 15 de 0,22  $\mu\text{m}$  para inyectar en el cromatógrafo;
- Pesar 6,6 g de fosfato dibásico de amonio en 1000 mL de agua desmineralizada para cromatografía;
- Buffer: metanol para cromatografía (30:70), ajustado a PH: 7 con ácido fosfórico al 10 %;
- Disolver con exactitud 29,45 mg de betametasona dipropionato en un balón de 50 mL;
- Aforar con diluyente y someter al ultrasonido por no menos de 15 minutos;
- Tomar 5 mL del balón anterior y agregarlos a un balón de 50 mL, luego aforar con diluyente;
- Concentración aproximada; 45,8 mcg de betametasona (filtrar con filtros minisart RC 15 de 0,22  $\mu\text{m}$  para inyectar en el cromatógrafo);
- Equipar el cromatógrafo con un detector UV-VIS a 254 nm y una columna LiChrospher 100 RP-18 125\*5 mm (5  $\mu\text{m}$ );
- La velocidad de flujo es aproximadamente de 1,5 mL por minuto;
- Cromatografiar la solución de valoración y registrar el cromatograma;
- Cromatografiar la preparación estándar y registrar el cromatograma: la desviación estándar relativa para inyecciones repetidas no es más de 2,0 %;
- Inyectar por separado en el cromatógrafo volúmenes iguales (aproximadamente 20  $\mu\text{L}$ ) de la preparación estándar y de la preparación de valoración;
- Registrar los cromatogramas y calcular el resultado según los picos registrados;
- Calcular la cantidad en mg de betametasona por mililitro.

#### **3.5.4. Evaluación de la concentración de agente tensoactivo presente en el área y equipo**

Para la evaluación de la concentración de agente tensoactivo en el área de producción de semisólidos y en el equipo de emulsificación por el método de conductividad, se utilizará la siguiente técnica cuantitativa:

- Reconocer los puntos de muestreo establecidos para el efecto;
- En un recipiente de plástico de 500 mL, recoger 250 mL de agua del último enjuague;
- En otro recipiente de 500 mL recoger 250 mL de agua que se utiliza para el enjuague del lavado directamente de la llave que se encuentra en el área;
- Trasladar ambas muestras al departamento de control de calidad para el análisis correspondiente;
- Colocar la sonda del conductímetro dentro del frasco con la muestra correspondiente;
- Anotar las conductividades de las muestras y comparar contra las conductividades obtenidas en la validación del método;
- Anotar la temperatura correspondiente a cada muestra.

Realizar este procedimiento con el blanco de medición y con las muestras, asegurándose que la sonda se encuentre a una profundidad suficiente que permita obtener la lectura correspondiente.

#### **3.6. Recolección y ordenamiento de la información**

El procedimiento de la investigación se divide en cuatro partes, en cada parte se recolectó una serie de datos lo que conlleva a la obtención y ordenamiento de los resultados. En la primera fase se validó el método analítico

de la cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC). Se realizó una comparación de las curvas obtenidas con un placebo y las obtenidas de una solución con betametasona. Se prepararon soluciones con concentraciones específicas y se determinó el área. Con los datos obtenidos se calculó la especificidad, linealidad, exactitud, intervalo y precisión.

La segunda parte consistió en la validación del método analítico de conductividad. Se obtuvieron las conductividades específicas para una serie establecida de concentraciones de agente tensoactivo. Con los datos obtenidos se calculó la linealidad, la precisión y la exactitud del método.

La tercera y cuarta parte consistieron en tomas de muestra para ser analizadas por los métodos analíticos ya validados. En la tercera parte se tomó una muestra previo a la limpieza del equipo y área, cinco muestras en el equipo, dos en el área de producción de semisólidos y un blanco. Las muestras se analizaron en el cromatógrafo buscando trazas de betametasona. El procedimiento se realizó tres veces consecutivas; por ende se obtuvieron 27 datos de áreas.

En la cuarta parte se tomaron dos muestras en el equipo y una en el área; estas se analizaron para determinar su conductividad y se calculó la concentración de cada una. El procedimiento se realizó tres veces consecutivas de forma que se podrían obtener 9 datos de conductividad y 9 de concentración.

### **3.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información**

Se presentan las tablas utilizadas para la recolección de datos, así como los métodos utilizados para obtener los resultados.

Tabla I. **Área de betametasona para la validación de cromatografía líquida de alta eficacia**

<b>Repetición</b>	<b>Concentración [%]</b>	<b>Área [mAU]</b>	<b>Tiempo de retención [min]</b>
1	Estándar	892699	3,687
2	Estándar	897432	3,687
3	Estándar	898057	3,673
4	Estándar	896113	3,667
5	Estándar	896438	3,660
6	Estándar	896916	3,653
1	50	440368	3,653
2	50	442779	3,667
3	50	441037	3,667
1	75	672256	3,660
2	75	674247	3,660
3	75	676049	3,653
1	100	896779	3,653
2	100	895686	3,653
3	100	897592	3,653
1	125	1125692	3,653
2	125	1135540	3,653
3	125	1137603	3,653
1	150	1354652	3,653
2	150	1358295	3,653
3	150	1367777	3,647
1	Fase móvil	0	0,000
2	Fase móvil	0	0,000
3	Fase móvil	0	0,000



Continuación de la tabla I.

1	Diluyente	0	0,000
2	Diluyente	0	0,000
3	Diluyente	0	0,000
1	Placebo	0	0,000
2	Placebo	0	0,000
3	Placebo	0	0,000
1	Placebo+Clotri.	0	0,000
2	Placebo+Clotri.	0	0,000
3	Placebo+Clotri.	14989	3,307

Fuente: elaboración propia.

Tabla II. **Área de clotrimazol para la validación de cromatografía líquida de alta eficacia**

Repetición	Concentración de betametasona [%]	Área [mAU]	Tiempo de retención [min]
1	Estándar	1013527	5,933
2	Estándar	1015569	5,927
3	Estándar	1012128	5,907
4	Estándar	1007564	5,900
5	Estándar	1005860	5,887
6	Estándar	1008447	5,880
1	50	497234	5,900
2	50	500267	5,920
3	50	501602	5,927
1	75	760786	5,900
2	75	759729	5,893

Continuación de la tabla II.

3	75	761910	5,887
1	100	1009831	5,873
2	100	1009859	5,880
3	100	1013235	5,873
1	125	1267701	5,867
2	125	1275707	5,867
3	125	1278527	5,867
1	150	1522919	5,860
2	150	1528273	5,860
3	150	1534896	5,860
1	Fase móvil	0	0,000
2	Fase móvil	0	0,000
3	Fase móvil	0	0,000
1	Diluyente	0	0,000
2	Diluyente	4561	6,167
3	Diluyente	0	0,000
1	Placebo	7943	6,193
2	Placebo	6012	6,193
3	Placebo	8302	6,167
1	Placebo+Clotri.	1065329	5,873
2	Placebo+Clotri.	1067382	5,867
3	Placebo+Clotri.	1064886	5,867

Fuente: elaboración propia.

Tabla III. **Datos para la validación del método analítico de conductividad**

Concentración [ppm]	Repetición	Conductividad [ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ]	Temperatura [ $^{\circ}\text{C}$ ]
0 (patrón)	1	1,9	23,2
5	1	3,1	23,0
	2	3,2	22,9
	3	3,0	23,1
10	1	5,1	23,0
	2	5,3	22,8
	3	5,0	23,2
15	1	7,0	22,9
	2	6,9	22,8
	3	6,9	22,7
20	1	9,0	22,9
	2	9,2	23,0
	3	9,1	23,2
25	1	11,1	23,1
	2	10,9	23,3
	3	10,8	22,8

Fuente: elaboración propia.

Tabla IV. **Áreas de betametasona para la validación del procedimiento de limpieza**

Punto	Área [mAU]		
	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
Estándar	2213318	2252607	2267904

Continuación de la tabla IV.

Blanco	0	0	0
1	1149575	1161464	1168598
2	0	0	0
3	0	0	0
4	0	0	0
5	0	0	0
6	0	0	0
7	0	0	0
8	0	0	0

Fuente: elaboración propia.

Tabla V. **Conductividad para la validación del procedimiento de limpieza**

Punto	Conductividad [ $\mu\text{S}/\text{cm}$ ]		
	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
0	6,80	6,70	6,70
1	7,00	6,90	6,90
2	7,10	7,00	7,00
3	7,20	6,90	6,90

Fuente: elaboración propia.

### **3.7.1. Plan de análisis de los resultados**

Los resultados obtenidos en las validaciones de los métodos analíticos serán sometidos a ecuaciones estadísticas y modelos matemáticos para determinar si cada método cumple con los criterios en los que se basó.

#### **3.7.1.1. Métodos y modelos de los datos según tipo de variables**

Los resultados obtenidos de las muestras tomadas serán comparados contra los datos teóricos obtenidos en la validación de los métodos analíticos, para determinar si el procedimiento de limpieza fue validado satisfactoriamente.

Para la determinación de la linealidad en los dos métodos analíticos en función de las concentraciones del agente tensoactivo o de betametasona, según el método, se determinó la pendiente de la ecuación lineal:

$$\beta_1 = \frac{S_{xy}}{S_{xx}}$$

Se determinó el intercepto de la ecuación:

$$\beta_0 = \bar{Y} - \beta_1 * \bar{X}$$

Y se modeló la ecuación lineal:

$$Y = \beta_1 X + \beta_0$$

Para calcular la exactitud y precisión del método analítico de conductividad se utilizarán las ecuaciones establecidas en la sección 3.8: análisis estadístico.

Asimismo, en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia, para determinar el límite aceptable de residuos de betametasona por medio del método de 10 partes por millón, se utilizó el siguiente modelo:

$$LA = \frac{10ppm * TL * AM}{AS * VS}$$

Para calcular el intervalo, exactitud, especificidad y precisión del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia se utilizan las ecuaciones establecidas en la sección 3.8: análisis estadístico.

#### **3.7.1.2. Programas a utilizar para análisis de datos**

Los programas a utilizar durante y en la culminación del proceso de investigación son los siguientes:

- Microsoft Power Point
- Microsoft Excel
- Microsoft Word

### **3.8. Análisis estadístico**

Para calcular el intervalo, exactitud, especificidad y precisión del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia y la exactitud y precisión del método analítico de conductividad se utilizaron las siguientes ecuaciones:

- Determinación del promedio de los datos obtenidos en las validaciones de los métodos analíticos:

$$\bar{X} = \frac{1}{n} * \sum_{i=1}^n x_i$$

- Determinación de la desviación estándar para calcular la precisión de los métodos analíticos:

$$D_e = \sqrt{\frac{1}{n-1} * \sum_{i=0}^n ((x_i - \bar{x})^2)}$$

- Determinación del coeficiente de variación para calcular la precisión de los métodos analíticos:

$$C_V = \frac{D_e}{|\bar{X}|} * 100$$

- Determinación de la covarianza de la pareja de datos:

$$S_{xy} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X}) * (y_i - \bar{Y})$$

- Determinación de la varianza de la variable independiente:

$$S_{xx} = \sum_{i=1}^n (x_i - \bar{X})^2$$

- Determinación del coeficiente de determinación lineal:

$$R^2 = \left( \frac{S_{xy}}{S_{xx} * S_{yy}} \right)^2$$



## 4. RESULTADOS

### 4.1. Límite máximo aceptable de residuos

A continuación se presenta el límite máximo de aceptación de residuos de betametasona que puede existir en el equipo posterior a la limpieza.

Tabla VI. Límite máximo aceptable de residuos de betametasona

Tamaño del lote [kg]	Superficie de contacto [cm <sup>2</sup> ]	Límite aceptable de residuos de betametasona [mg/mL]
90,00	49,121,00	0,0458

Fuente: elaboración propia.

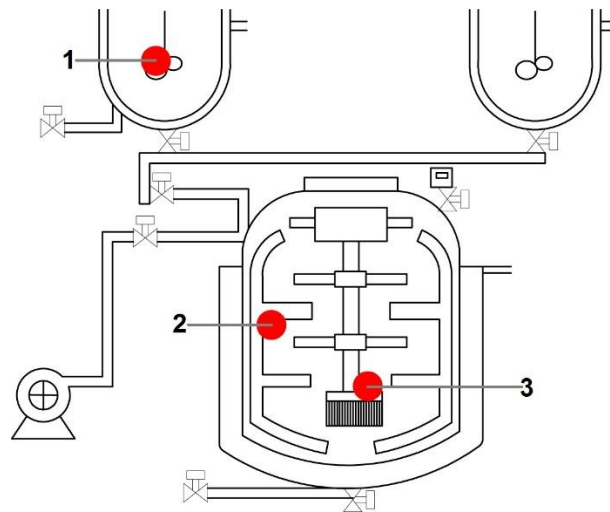
### 4.2. Puntos críticos

A continuación se presentan de manera gráfica los puntos críticos específicos, establecidos en el área de producción de semisólidos y en el equipo de emulsificación, de donde fueron tomadas las muestras para su análisis, posterior a realizar el procedimiento de limpieza.

#### 4.2.1. Equipo

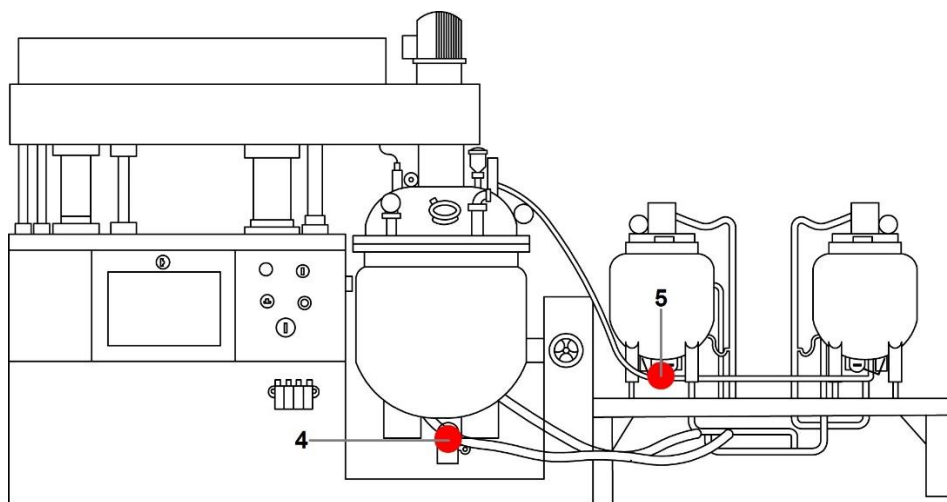
A continuación se presentan los puntos críticos localizados en el interior del equipo y en las tuberías de descarga.

Figura 3. **Puntos críticos localizados en el interior del equipo**



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD.

Figura 4. **Puntos críticos localizados en las tuberías del equipo**



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD.

Tabla VII. Descripción de puntos críticos dentro del equipo

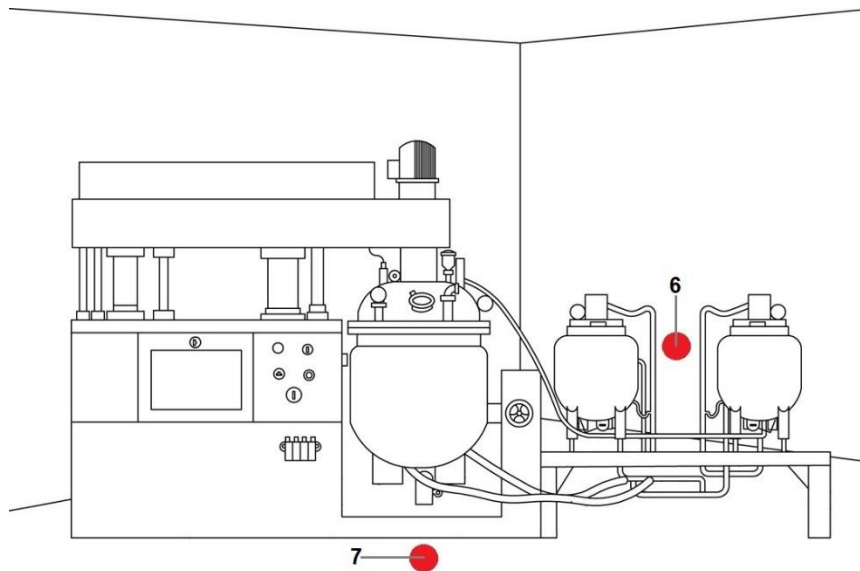
Punto	Descripción
1	Mezclador de la marmita de fase oleosa
2	Intersección de aleta en marmita central
3	Intersección de mezclador en marmita central
4	Tubería de descarga de marmita central
5	Tubería de descarga de marmita de fase oleosa

Fuente: elaboración propia, con base en las figuras 3 y 4.

#### 4.2.2. Área

A continuación se presentan los puntos críticos localizados en el área.

Figura 5. Puntos críticos localizados en el área



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD.

Tabla VIII. **Descripción de puntos críticos en el área**

<b>Punto</b>	<b>Descripción</b>
6	Pared cercana a la marmita de fase oleosa
7	Piso debajo de tubería de descarga de marmita central

Fuente: elaboración propia, con base en las figura 5.

#### **4.3. Validación del método analítico de conductividad**

A continuación se presentan los resultados obtenidos para la validación del método analítico de conductividad en donde el agente tensoactivo es el componente de interés.

##### **4.3.1. Linealidad**

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de linealidad en la validación del método analítico de conductividad.

Tabla IX. **Linealidad para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración de agente tensoactivo**

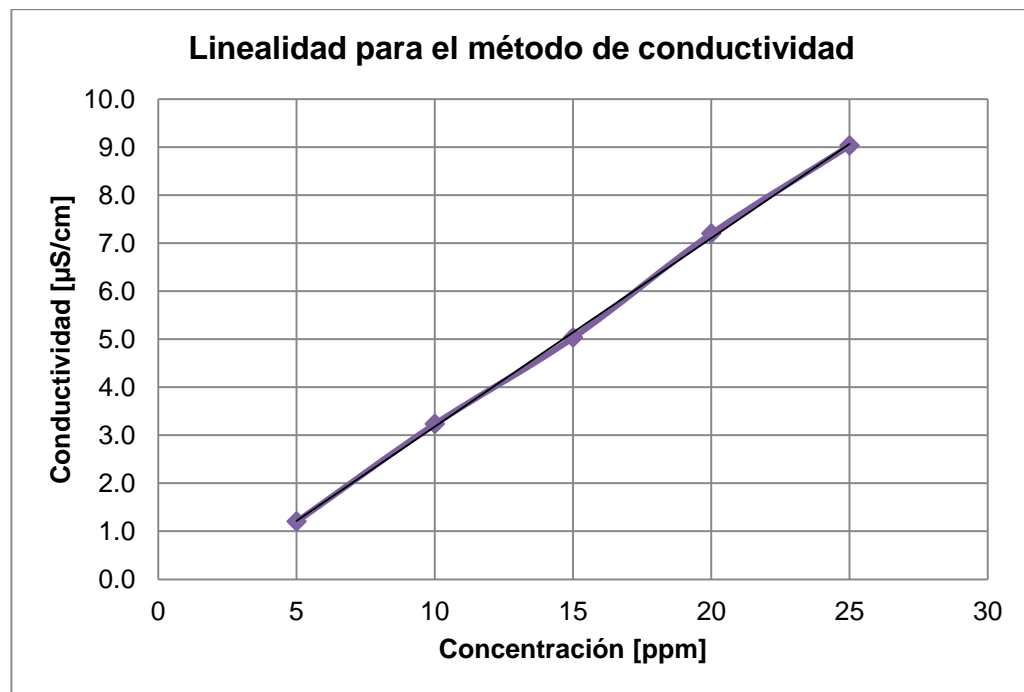
<b>Concentración [ppm]</b>	<b>Conductividad [<math>\mu</math>S/cm]</b>			
	<b>Repetición 1</b>	<b>Repetición 2</b>	<b>Repetición 3</b>	<b><math>\bar{X}</math></b>
5	1,2	1,3	1,1	1,2
10	3,2	3,4	3,1	3,2

Continuación de la tabla IX.

15	5,1	5,0	5,0	5,0
20	7,1	7,3	7,2	7,2
25	9,2	9,0	8,9	9,0

Fuente: elaboración propia.

Figura 6. **Linealidad para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración de agente tensoactivo**



Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla IX.

Tabla X. **Modelo matemático de la linealidad para la validación del método analítico de conductividad**

Color	Materia prima	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R <sup>2</sup> )
	Agente tensoactivo	$\sigma = 0,3927c - 0,75$	0,9993

Fuente: elaboración propia, con base en la figura 6.

#### 4.3.2. Precisión

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de precisión en la validación del método analítico de conductividad.

Tabla XI. **Precisión para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración del agente tensoactivo**

Concentración [ppm]		10	15	20
Conductividad [μS/cm]	Ensayo 1	3,2	5,1	7,1
	Ensayo 2	3,4	5,0	7,3
	Ensayo 3	3,1	5,0	7,2
$\bar{X}$ [μS/cm]		3,2	5,0	7,2
D <sub>e</sub>		0,1528	0,0577	0,1000
Cv [%]		4,7	1,1	1,4
Cv <sub>prom</sub> [%]		2,4		

Fuente: elaboración propia.

### 4.3.3. Exactitud

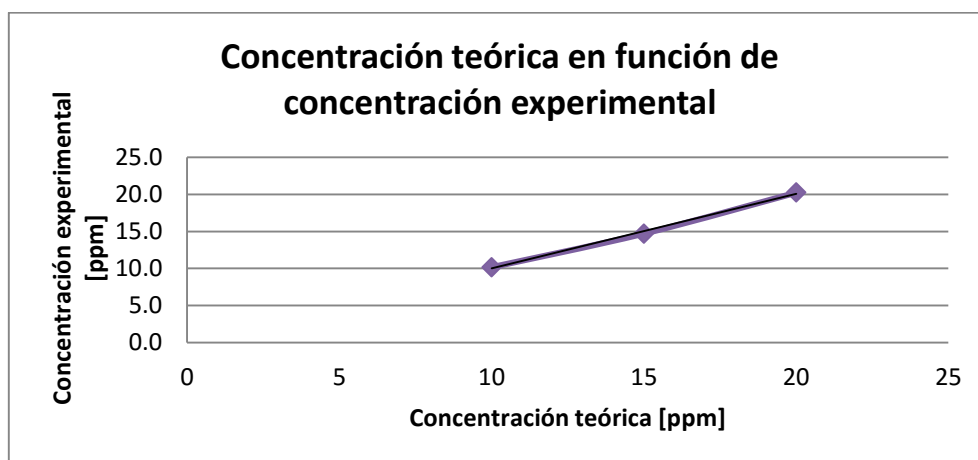
Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de exactitud en la validación del método analítico de conductividad.

Tabla XII. **Exactitud para la validación del método analítico de conductividad en función de la concentración del agente tensoactivo**

Concentraciones [ppm]					Recuperación [%]
Valor teórico	Lectura 1	Lectura 2	Lectura 3	Valor experimental	
10	10,1	10,6	9,8	10,2	101,7
15	14,9	14,6	14,6	14,7	98,0
20	20,0	20,5	20,2	20,2	101,2
$\bar{X}$					<b>100,3</b>

Fuente: elaboración propia.

Figura 7. **Exactitud para la validación método analítico de conductividad**



Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XII.

Tabla XIII. **Modelo matemático de la exactitud para la validación del método de conductividad**

Color	Materia prima	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R <sup>2</sup> )
	Agente tensoactivo	$C_T = 1,0067C_e - 0,0667$	0,9967

Fuente: elaboración propia, con base en la figura 7.

#### 4.4. Validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia

A continuación se presentan los resultados obtenidos para validar el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia, en donde la betametasona es el componente activo de interés.

##### 4.4.1. Linealidad

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de linealidad en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.

Tabla XIV. **Linealidad para la validación del método analítico de HPLC**

Concentración [%]	Área [mAU]			
	Repetición 1	Repetición 2	Repetición 3	$\bar{X}$
50	440368	442779	441037	441395
75	672256	674247	676049	674184

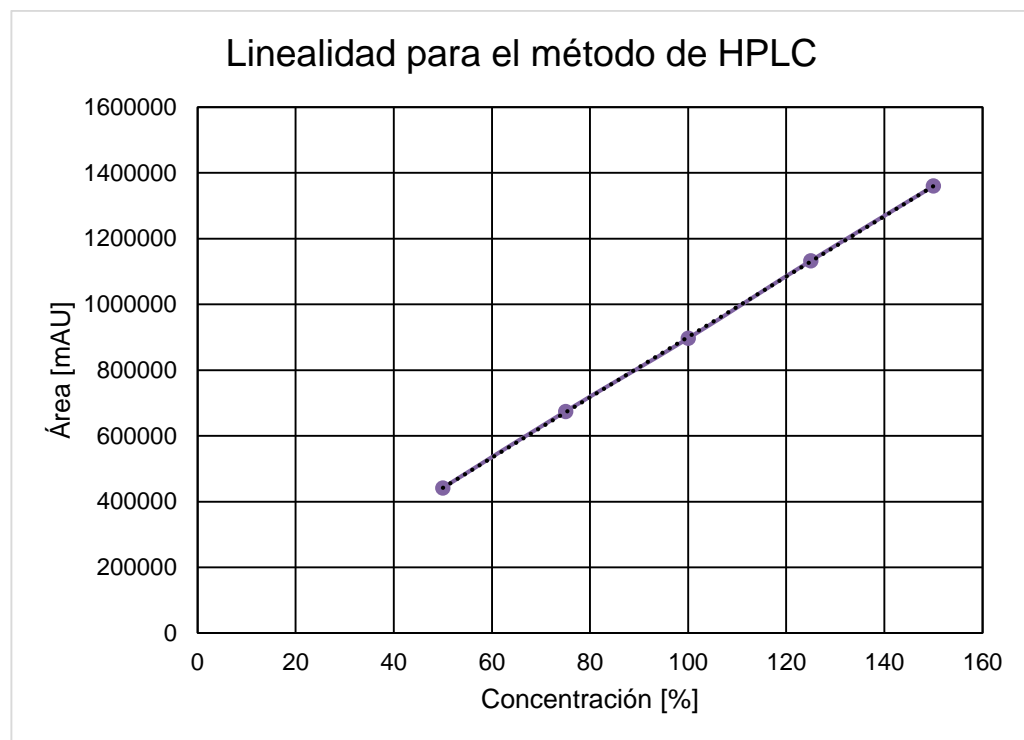


Continuación de la tabla XIV.

100	896779	895686	897592	896686
125	1125692	1135540	1137603	1132945
150	1354652	1358295	1367777	1360241

Fuente: elaboración propia.

Figura 8. **Linealidad para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia**



Fuente: elaboración propia, con datos de la tabla XIV.

Tabla XV. **Modelo matemático de la linealidad para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia**

Color	Materia prima	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R <sup>2</sup> )
	Betametasona	A = 9185.8 C% - 17492	0,9999

Fuente: elaboración propia, con base en la figura 8.

#### 4.4.2. Precisión

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de precisión en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.

Tabla XVI. **Precisión para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia en función de la concentración de la betametasona**

	Concentración [%]	50	100	150
Áreas [mAU]	Área 1	440368,000	896779,000	1354652,000
	Área 2	442779,000	895686,000	1358295,000
	Área 3	441037,000	897592,000	1367777,000
	$\bar{X}$	441394,667	896685,667	1360241,333
	D <sub>e</sub>	1244,658	956,422	6775,512
	C <sub>v</sub> [%]	0,282	0,107	0,498
	C <sub>v</sub> <sub>prom</sub> [%]	0,296		

Fuente: elaboración propia.

#### 4.4.3. Exactitud

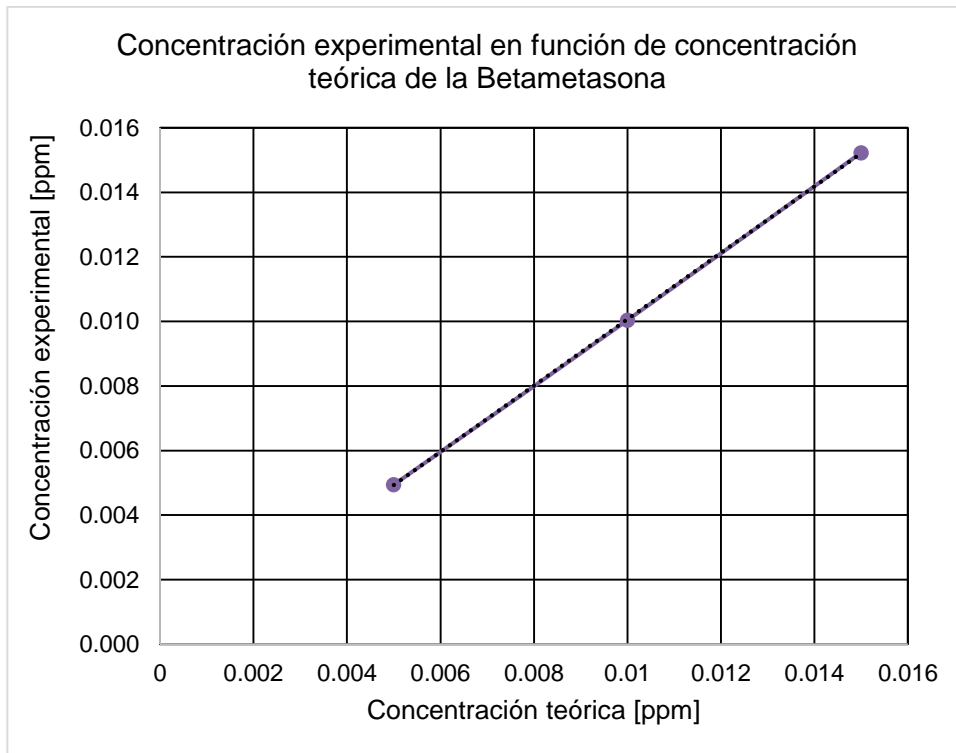
Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de exactitud en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.

Tabla XVII. **Exactitud de la validación del método analítico HPLC en función de la concentración de la betametasona**

Parámetros		Diluciones de placebo enriquecido		
Concentración [%]		50	100	150
Concentración teórica de betametasona [ppm]		0,0050	0,0100	0,0150
Áreas [mAU]	Área 1	440368	896779	1354652
	Área 2	442779	895686	1358295
	Área 3	441037	897592	1367777
Promedio de áreas		441395	896686	1360241
Concentración del estándar [ppm]		0,010035	0,010035	0,010035
Área promedio del estándar		896276	896276	896276
Concentración experimental de betametasona [ppm]		0,0049	0,0100	0,0152
Concentración experimental de betametasona [%]		98,8	100,4	101,5
Promedio de la recuperación del analito agregado de betametasona [%]		100,26		

Fuente: elaboración propia.

Figura 9. **Exactitud para la validación del método analítico cromatografía líquida de alta eficacia**



Fuente: elaboración propia, con datos de tabla XVII.

Tabla XVIII. **Modelo matemático de la exactitud del método analítico HPLC**

Color	Materia prima	Modelo matemático	Coefficiente de correlación (R <sup>2</sup> )
	Betametasona	$C_e = 1.0288C_T - 0.0002$	1

Fuente: elaboración propia, con base en la figura 9.

#### 4.4.4. Intervalo

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de intervalo en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.

Tabla XIX. **Rango en el cuál el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia es adecuado**

Intervalo de concentración [%]	50-150
--------------------------------	--------

Fuente: elaboración propia.

#### 4.4.5. Especificidad

Seguidamente se presentan los resultados obtenidos en el criterio de especificidad en la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia.

Tabla XX. **Especificidad para la validación del método analítico HPLC**

Soluciones	Área 1	Área 2	Área 3	Área 4	Área 5	Área 6	$\bar{X}_a$
Estándar	892699	897432	898057	896113	896438	896916	896276
Placebo	0	0	0	--	--	--	0
Diluyente	0	0	0	--	--	--	0
Fase Móvil	0	0	0	--	--	--	0

Fuente: elaboración propia.

#### 4.5. Validación del procedimiento de limpieza

Se realizó la limpieza en el área y equipo según los procedimientos normalizados; posterior a esto se tomaron muestras en los puntos críticos establecidos. A continuación se presentan las concentraciones de betametasona y agente tensoactivo presentes en las muestras.

##### 4.5.1. Corrida número 1

Seguidamente se presentan los resultados de los métodos analíticos de conductividad y cromatografía líquida de alta eficacia en la corrida número 1.

##### 4.5.1.1. Análisis por medio del método de conductividad

A continuación se presentan las concentraciones del agente tensoactivo en los puntos críticos establecidos previamente.

Tabla XXI. **Concentración de agente tensoactivo posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 1**

<b>Punto Crítico</b>	<b>Conductividad [<math>\mu</math>S/cm]</b>	<b>Concentración [ppm]</b>
Blanco	6,80	0,00
4	7,00	2,42
5	7,10	2,67
6	7,20	2,93

Fuente: elaboración propia, con datos de las figuras 3 y 4, y la tabla X.

#### 4.5.1.2. Análisis por medio del método de HPLC

A continuación se presenta la cuantificación de trazas de betametasona obtenidos al finalizar el procedimiento de limpieza estandarizado en el equipo y en el área.

Tabla XXII. **Concentración de betametasona posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 1**

<b>Punto crítico</b>	<b>Área [mAU]</b>	<b>Concentración [ppm]</b>
Estándar	2213318	2,4285
Blanco	0	0,0190
0	1149575	1,2705
1	0	0,0190
2	0	0,0190
3	0	0,0190
4	0	0,0190
5	0	0,0190
6	0	0,0190
7	0	0,0190

Fuente: elaboración propia, con datos de las figuras 3 y 4, y la tabla XIV.

#### 4.5.2. Corrida número 2

Seguidamente se presentan los resultados de los métodos analíticos de conductividad y cromatografía líquida de alta eficacia en la corrida número 2.

##### 4.5.2.1. Análisis por medio del método de conductividad

A continuación se presentan las concentraciones del agente tensoactivo en los puntos críticos establecidos previamente.

Tabla XXIII. **Concentración de agente tensoactivo posterior al procedimiento de limpieza de equipo y área, corrida número 2**

<b>Punto Crítico</b>	<b>Conductividad [<math>\mu</math>S/cm]</b>	<b>Concentración [ppm]</b>
Blanco	6,70	0,00
4	6,90	2,16
5	7,00	2,42
6	6,90	2,16

Fuente: elaboración propia, con datos de las figuras 3 y 4, y la tabla X.

#### **4.5.2.2. Análisis por medio del método de HPLC**

A continuación se presentan las concentraciones de betametasona en los puntos críticos establecidos previamente.

Tabla XXIV. **Concentración de betametasona posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 2**

<b>Punto crítico</b>	<b>Área [mAU]</b>	<b>Concentración [ppm]</b>
Estándar	2252607	2,4713
Blanco	0	0,0190
0	1161464	1,2835
1	0	0,0190
2	0	0,0190
3	0	0,0190
4	0	0,0190
5	0	0,0190
6	0	0,0190
7	0	0,0190

Fuente: elaboración propia, con datos de las figuras 3 y 4, y la tabla XIV.



### 4.5.3. Corrida número 3

Seguidamente se presentan los resultados de los métodos analíticos de conductividad y cromatografía líquida de alta eficacia en la corrida número 3.

#### 4.5.3.1. Análisis por medio del método de conductividad

A continuación se presentan las concentraciones del agente tensoactivo en los puntos críticos establecidos previamente.

Tabla XXV. **Concentración de agente tensoactivo posterior al procedimiento de limpieza de equipo y área, corrida número 3**

<b>Punto Crítico</b>	<b>Conductividad [<math>\mu\text{S}/\text{cm}</math>]</b>	<b>Concentración [ppm]</b>
Blanco	6,70	0,00
4	6,90	2,16
5	7,00	2,42
6	6,90	2,16

Fuente: elaboración propia, con datos de las figuras 3 y 4, y la tabla X.

#### 4.5.3.2. Análisis por medio del método de HPLC

A continuación se presentan las concentraciones de betametasona en los puntos críticos establecidos previamente.

Tabla XXVI. **Concentración de betametasona posterior al procedimiento de limpieza en el equipo y área, corrida número 3**

<b>Punto crítico</b>	<b>Área [mAU]</b>	<b>Concentración [ppm]</b>
Estándar	2267904	2,4713
Blanco	0	0,0190
0	1168598	1,2912
1	0	0,0190
2	0	0,0190
3	0	0,0190
4	0	0,0190
5	0	0,0190
6	0	0,0190
7	0	0,0190

Fuente: elaboración propia, con datos de las figuras 3 y 4, y la tabla XIV.

## 5. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

El objetivo principal de esta investigación busca validar el procedimiento de limpieza en el área de producción de semisólidos y en el equipo de emulsificación, trabajando con la betametasona como componente activo de interés. Para que, posterior a la investigación pueda ser replicado y se validen los procedimientos de limpieza en todas las áreas y equipos de la planta de producción del laboratorio y droguería Pharmalat, S. A.

Se definió la betametasona como el componente activo de interés para esta investigación, ya que a pesar de que el clotrimazol y la gentamicina también son componentes activos del mismo producto, este es un esteroide glucocorticoide, termolábil (lo cual implica que la limpieza deba realizarse con agua a  $T \geq 60$  °C) y los datos toxicológicos demuestran una toxicidad aguda con una sobredosis ( $DL_{50}(\text{oral, rata}) \geq 4$  g/kg y  $DL_{50}(\text{intraperitoneal, rata}) \geq 4$  g/kg). La betametasona también puede ser nociva por inhalación, por ingestión y en contacto con la piel. Un efecto crónico podría causar un teratógeno.

Se procedió a calcular el límite máximo aceptable de residuos, que es un valor teórico, el cual establece la cantidad máxima que puede existir de betametasona o agente tensoactivo dentro del equipo y área al finalizar el procedimiento de limpieza normalizado.

Para determinar el límite máximo permitido de betametasona en el equipo, se utilizó la técnica de 10 ppm; por ende se utilizó el método directo de muestreo de hisopado. Este límite de aceptación varía en cada equipo, ya que se basa en características propias de cada uno. Para calcularlo se necesita establecer el

tamaño del lote, área de muestreo, área superficial y volumen de muestreo. Para este método se definió que el área de muestreo sería de 25 cm<sup>2</sup> y el volumen del solvente, de 10 mL.

Se calculó el área superficial del equipo de emulsificación que tiene contacto directo con el componente activo betametasona, y como se puede observar en la tabla VI esta fue de 49,121 cm<sup>2</sup>. Al trabajar con un lote de 90 kg el límite máximo aceptable de residuos de betametasona es de 0.0458 mg/mL.

Por el contrario, para analizar y determinar la presencia de agente tensoactivo se utilizará un método de muestreo indirecto de enjuague y con un límite máximo de aceptación de residuos de 10 ppm. Se eligió el método de muestreo de enjuague ya que se va a analizar la cantidad de agente tensoactivo presente en la muestra por medio del método de conductividad; y para esto, el volumen de la muestra debe ser una cantidad fija y lo suficientemente grande para poder tomar las mediciones. Además, el residuo (el agente tensoactivo) es soluble en el solvente (agua) y se pudo acceder a lugares inaccesibles.

Se procedió a realizar un estudio para determinar la ubicación de los puntos críticos en el equipo de emulsificación y en el área de producción de semisólidos. Con alusión a las peores condiciones posibles, estos puntos se localizaron en zonas críticas, y es por esto que se denominan puntos críticos de muestreo.

En las figuras 3, 4 y 5 se muestran gráficamente todos los puntos críticos, dentro del equipo y área. Estos puntos fueron ubicados considerando el material, composición, localización y dificultad para acceder y por ende, para limpiar. Es decir se localizaron en puntos en donde la superficie no es plana; existen intersecciones, hay varias piezas juntas, lugares cerrados y ubicaciones en donde el acceso de instrumentos de limpieza es complejo.

Para la determinación de restos de betametasona, se eligieron 5 puntos críticos dentro del equipo de emulsificación y en el área 2 puntos. Dentro del equipo los puntos específicos de muestreo se localizan en tuberías de descarga, intersecciones de aspas o aletas y en mezcladores, así como en en el área, en la pared y piso.

Para determinar la existencia de agente tensoactivo solamente se ubicaron 2 puntos en el equipo, en las tuberías de descarga de la marmita central y de la fase oleosa, y uno en el área en la pared más cercana a la marmita de la fase oleosa.

La elección de estos puntos críticos, además de las consideraciones mencionadas, se debió a la determinación de que en los puntos localizados dentro del equipo existe mayor acumulación de producto. En los puntos localizados en el área existe mayor riesgo de contaminación debido a la cercanía con el equipo y con el componente activo.

Siempre que se realice una revalidación, análisis o monitoreo, las muestras deben de ser tomadas en estos puntos críticos, para asegurar resultados más reales y para que el proceso sea válido. Si se desea cambiar, eliminar o sustituir un punto crítico es necesario que el departamento de control de cambios realice un estudio para determinar si se debe de realizar una revalidación de todo el proceso o solamente algunos ajustes.

Con las muestras tomadas se procedió a analizarlas en el departamento de control de calidad. Para la determinación de restos existentes de agente tensoactivo posterior a la realización de un procedimiento de limpieza, se utilizó el método analítico de conductividad. Y para la cuantificación de trazas existentes de betametasona se utilizó el de cromatografía líquida de alta eficacia.

Según el Reglamento Técnico Centroamericano (11.03.39: 06) el método analítico de conductividad es de categoría III, de desempeño físicoquímico, y es por esto que para validarlo es necesario obtener resultados satisfactorios en los parámetros de linealidad, precisión y exactitud.

Para obtener la linealidad en la validación del método analítico de conductividad se realizaron cinco soluciones a cinco concentraciones definidas y conocidas y se midió la conductividad de cada solución. Realizando tres réplicas a cada nivel con base en lo que dicta la USP <1225> y la ICH Q2(R1).

Como se presenta en la tabla IX, se establecieron las concentraciones del agente tensoactivo desde 5 ppm hasta 25 ppm, debido a que el límite máximo aceptable de residuo es de 10 ppm y por norma; esta concentración debe estar dentro del rango de valores de concentraciones para la validación del método analítico. Para este estudio se establece una conductividad desde 1,2  $\mu\text{S}/\text{cm}$  hasta 9,0  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , respectivamente.

Se graficaron los valores de la conductividad en función de la concentración de las soluciones para obtener un modelo matemático y un coeficiente de correlación. Para que el método analítico sea validado el valor del coeficiente de correlación debe encontrarse entre 0,98 y 1,00, según la USP <1225> y la ICH Q2(R1). Como se presenta en la tabla X, este tiene un valor de 0,9993, por lo tanto el parámetro de linealidad es correcto.

El modelo matemático que se presenta en la tabla X se utilizó para determinar la concentración en las muestras tomadas en el área y equipo al finalizar el procedimiento de limpieza. Ya que las variables del modelo matemático son conductividad y concentración, al realizar un despeje la conductividad se vuelve la variable independiente y la concentración la variable

dependiente. Entonces al utilizar el conductivímetro y obtener una medición, se puede determinar la concentración de agente tensoactivo presente en la muestra.

Para obtener la precisión del método de conductividad, este se debe evaluar por medio de repetibilidad, reproducibilidad y/o precisión intermedia según la USP <1225> y la ICH Q2(R1). Por esto se realizaron mediciones de conductividad a soluciones con tres diferentes concentraciones, 10 ppm, 15 ppm y 20 ppm, respectivamente.

Según las especificaciones USP <1225> y la ICH Q2(R1), el método será validado hasta que el porcentaje del coeficiente de variación sea menor al 3 %. En la tabla XI se observa que este tiene un valor de 2,4 %. Estableciendo así que el método de conductividad también está validado con respecto al parámetro de precisión.

Para determinar la exactitud en la validación del método analítico, la USP <1225> y la ICH Q2(R1) dictan que se deben utilizar tres niveles de concentración conocida; en este caso se realizaron soluciones de 10 ppm, 15 ppm y 20 ppm. También establece que se deben de realizar tres réplicas para cada nivel.

Utilizando el modelo matemático de la tabla X se determinó la concentración experimental para cada solución, siendo estas de 10,2 ppm, 14,7 ppm y 20,2 ppm, respectivamente. Según la USP <1225> y la ICH Q2(R1) para que el método analítico sea validado según su exactitud, el porcentaje de recuperación obtenido debe ser de  $100 \pm 2$  %, lo cual equivale a un 2 % de error relativo. Como se presenta en la tabla XII, el porcentaje de recuperación fue del 100,3 %, demostrando la validez del parámetro de exactitud.

En la figura 7 se presenta el comportamiento de la concentración experimental respecto de la concentración teórica. En la tabla XIII se muestra la relación matemática de estas concentraciones y la correlación lineal.

Se demostró que el método analítico de conductividad es correcto con respecto de los parámetros de linealidad, precisión y exactitud. Se establece que este es un método validado y que se puede utilizar para el análisis de muestras para la validación del procedimiento de limpieza en toda la planta de producción. Se procedió a realizar un documento escrito que respalda la validación del método de conductividad (propiedad de Pharmalat, S. A.) y a validar el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC).

A diferencia del método de conductividad y según el RTCA (11.03.39: 06), el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) es de categoría I, de principios activos; para validarlo se deben de medir los criterios de linealidad, precisión, exactitud, intervalo y especificidad.

Para este método analítico los parámetros de linealidad, precisión y exactitud siguen las mismas especificaciones dictadas por la USP <1225> y la ICH Q2(R1), mencionadas anteriormente.

Se inició validando el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia por medio del criterio de linealidad. En este, la concentración de la betametasona se representó en porcentajes y estos van desde 50 % hasta 150 %. Siendo el 100 % la concentración de interés como el valor central del rango. Se obtuvo un área de 441,395 mAU y 1,360,241 mAU, respectivamente, como se puede observar en la tabla XIV.



En la figura 8 se muestra de forma gráfica la linealidad del método, y en la tabla XV se presenta el modelo matemático por medio del cual se puede calcular el área si se tiene un dato de concentración; sin embargo, al tomar las muestras en el equipo o área, después de realizar la limpieza, se podrá conocer la concentración de betametasona existente en función del valor de área que se obtenga en el cromatograma.

También, se observa en la tabla XV que el coeficiente de correlación es 0,9999, demostrando que la validación del método analítico por medio de este parámetro de linealidad es correcta, ya que se encuentra dentro del rango de 0,98 a 1,00.

La precisión como criterio para la validación del método HPLC, también presenta las concentraciones en porcentajes como se puede observar en la tabla XVI, con valores de 50 %, 100 % y 150 %. Los valores de áreas que se obtuvieron respectivamente son de 441394,67 mAU, 896685,67 mAU y 1360241,33 mAU.

El porcentaje de coeficiente de variación obtenido es de 0,296 %, el cual establece que la validación del método al seguir el criterio de precisión es correcta; ya que este parámetro dicta que el coeficiente de variación debe de ser menor al 2,0 %.

Siguiendo los lineamientos de criterio de exactitud, se prepararon soluciones de placebo enriquecido con concentraciones de 0,005 ppm, 0,0100 ppm y 0,0150 ppm, como se puede observar en la tabla XVII, obteniendo áreas de 441395 mUA, 896686 mUA y 1360241 mUA, respectivamente.

Las concentraciones experimentales del analito recuperado son de 0,0049 ppm, 0,0100 ppm y 0,0152 ppm, dando como resultado un 100,26 % de

recuperación de betametasona. Este valor está dentro del rango de  $100\pm 2\%$  que se pide para validar el método utilizando este criterio.

Se realizó una gráfica de la concentración experimental en función de la concentración teórica de betametasona, como se observa en la figura 9. Con base en esto, se obtuvo un modelo matemático con pendiente de 1,0288 y un intercepto de 0,0002, y el coeficiente de correlación con valor de 1, presentados en la tabla XVIII. Los lineamientos establecen que para validar el método el coeficiente de correlación debe ser cercano a 1 y para tener una pendiente cercana a 1 y el intercepto con un valor cercano a 0. Por lo tanto la validación basada en este criterio también es correcta.

Con base en los resultados de la linealidad, precisión y exactitud se determinó el rango o intervalo entre la menor y mayor concentración, en las cuales el método analítico tiene un nivel adecuado. Como se puede observar en la tabla XIX, este intervalo está entre 50 % y 150 %.

Para determinar la especificidad en la validación del método HPLC, se realizaron cuatro tipos de soluciones: estándar, placebo, diluyente y fase móvil. Se procedió a realizar seis réplicas del análisis de las muestras en el cromatógrafo líquido. Como se observa en la tabla XX, las lecturas de áreas para el placebo, diluyente y fase móvil son de 0 mAU. Sin embargo, la lectura para la solución estándar es de 896276 mAU.

Esto demuestra que el método va a detectar sola y específicamente concentración de la betametasona, y que es inespecífico para las demás soluciones que pueden estar presentes en la muestra. Con esto se establece que la validación del método analítico según el criterio de especificidad es correcto.

Con base en estos resultados satisfactorios de linealidad, precisión, exactitud, intervalo y especificidad, el método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia se validó. Se puede utilizar para analizar las muestras tomadas, en el equipo y área, después de finalizar los procedimientos de limpieza, con la certeza de que los resultados son precisos y exactos.

Con los métodos analíticos validados, se procedió a validar los procedimientos de limpieza para el área de producción de semisólidos, y para el equipo de emulsificación según el protocolo de limpieza (propiedad de Pharmalat, S. A).

Para validar el procedimiento de limpieza, se necesitó producir un lote de 90 kg, ya que este valor fue el especificado para calcular el límite máximo aceptable de residuos. Posterior a la producción, realizar una limpieza total en el área y en el equipo.

Los procedimientos de limpieza de área y equipo fueron estudiados y estandarizados de acuerdo con las necesidades que se presentan. Es de suma importancia seguir cada paso de los procedimientos y realizar cada especificación que se encuentre en ellos, ya que para que la validación de los procedimientos de limpieza se realice, se debe asegurar que el proceso se efectuará uniformemente. Para que los resultados sean los previstos y especificados.

Para que un procedimiento sea validado se deben de realizar tres corridas, y todas deben de dar resultados satisfactorios de manera consecutiva. Si alguno falla, se debe empezar desde el inicio nuevamente. Con base en esto se realizaron tres pruebas y se analizaron los resultados.

En cada corrida se tomaron muestras en los puntos críticos establecidos y se analizaron con uno de los métodos analíticos, según la materia prima. Al tener la conductividad o el área de cromatografía en cada muestra, se puede determinar, utilizando el modelo matemático de las linealidades de cada método analítico, la concentración de agente tensoactivo o betametasona, respectivamente, presente.

En la primer corrida, en el análisis de conductividad de la tabla XXI, se observa que las concentraciones de agente tensoactivo en los puntos críticos del equipo y del área son de 2,42 ppm, 2,67 ppm y 2,93 ppm. Al compararlos con el límite de aceptabilidad de 10 ppm, se observó que la limpieza sí cumplió con los requisitos de validación de los procedimientos.

En la tabla XXII se observa el análisis para la determinación de trazas de betametasona. Solo la solución estándar y el punto 0 tienen lectura de áreas de cromatografía, ya que el punto 0 es de una muestra que fue tomada al finalizar la producción, pero antes de realizar el procedimiento de limpieza. Los demás puntos críticos exponen una concentración de betametasona de 0,0190 ppm, y el límite máximo aceptable de residuos es 0,0458 ppm. Así que, este procedimiento y la corrida número 1 cumplen con los requisitos para la validación.

En la corrida número 2, se puede observar en la tabla XXIII, que la concentración del agente tensoactivo después de la limpieza en los tres puntos críticos es de 2,16 ppm, 2,42 ppm y 2,16 ppm. En la tabla XXIV, se observa que solo el punto 0 y la solución estándar tienen lecturas de área de cromatografía, los demás puntos tienen una concentración de betametasona de 0,0190 ppm. Ya que las concentraciones de agente tensoactivo son menores a 10 ppm y las concentraciones de betametasona, menores a 0,0458 ppm. Entonces esta

corrida también cumplió con los requisitos para validar los procedimientos de limpieza.

Asimismo, en la corrida número 3, en la tabla XXV, se presentan los resultados de la presencia de agente tensoactivo en el equipo y área, siendo estas concentraciones de 2,16 ppm, 2,42 ppm y 2,16 ppm. Las tres concentraciones están por debajo del límite de 10 ppm. En la tabla XXVI, se puede observar que, así como en las corridas número 1 y número 2, solo la solución estándar y el punto 0 presentan lecturas de área de la cromatografía. Los demás puntos presentan una concentración de 0,0190 ppm, que es menor a 0,0458 ppm.

Los tres análisis de conductividad y los tres de cromatografía líquida de alta eficacia realizados arrojan valores de concentración de agente tensoactivo y betametasona, respectivamente, dentro del rango establecido. Los resultados de las tres corridas se encuentran dentro de los parámetros de aceptación, y por ende, los procedimientos de limpieza en el área de producción de semisólidos y en el equipo de emulsificación quedaron validados satisfactoriamente.



## CONCLUSIONES

1. Se determinó que el límite máximo aceptable de residuos que puede estar presente en el equipo y área después de realizar los procedimientos de limpieza es de 0,0485 ppm para la betametasona y, de 10 ppm para el agente tensoactivo.
2. Para el análisis de la betametasona se establecieron 5 puntos críticos en el equipo y 2 puntos en el área; mientras que para la determinación de restos de agente tensoactivo se establecieron 2 puntos en el equipo y uno en el área, basándose en la dificultad de acceso y limpieza de la ubicación.
3. Se validó el método analítico de conductividad con un coeficiente de correlación de linealidad de 0,9993, coeficiente de variación en la precisión de 2,4 % y porcentaje de recuperación en el criterio de exactitud de 100,3 %.
4. Se validó el método analítico de HPLC con un coeficiente de correlación de la linealidad de 0,9999, coeficiente de variación en la precisión de 0,296 %, porcentaje de recuperación en el criterio de exactitud de 100,26 %, presentó un intervalo de 50 %-150 % y en el criterio de especificidad solamente se presentó lectura de betametasona.
5. Se obtuvieron resultados satisfactorios en la cuantificación de betametasona al comparar el valor teórico de 0,0458 ppm con el valor experimental de 0,0190 ppm que se presentó en las tres corridas.

6. Se obtuvieron resultados satisfactorios en la determinación de presencia del agente tensoactivo comparado con el valor teórico de 10 ppm, el valor experimental que, en las tres corridas, oscila entre 2,16 ppm y 2,93 ppm.
7. Se validaron los procedimientos de limpieza para el área de producción de semisólidos y para el equipo de emulsificación en Pharmalat, S. A. en virtud de que todos los resultados fueron satisfactorios.



## RECOMENDACIONES

1. Realizar un manual de capacitación que incluya los procedimientos de limpieza normalizados y específicos de cada área y equipo de la planta de producción.
2. Capacitar constantemente a los operarios encargados de realizar la limpieza en las áreas y equipos de la planta; asimismo, al supervisor de limpieza, al Departamento de Control de Calidad y al Departamento de Producción.
3. Realizar evaluaciones teórico-prácticas a todo el personal encargado de realizar o supervisar la limpieza en las áreas y equipos, para determinar la eficiencia y eficacia con la que se realizan los procedimientos y proponer posibles mejorías.
4. Realizar los estudios necesarios para determinar el periodo de tiempo de validez de una limpieza en áreas y equipos.
5. Al realizar análisis, revalidaciones o controles de la limpieza en áreas y equipos, el valor de la temperatura de las muestras debe de ser igual o inmediatamente inferior a la temperatura a la que se midió la conductividad en la validación del método analítico (entre 20 °C y 25 °C).

6. Conformar un departamento de validaciones y control de cambios, el cual sea el encargado de validar los procedimientos de limpieza de toda la planta y que tenga la autoridad para determinar si una revalidación es necesaria o no aplica.
  
7. Validar las modificaciones o cambios importantes en el proceso de producción en equipos, condiciones de áreas y de agua, materia prima y agentes de limpieza que puedan modificar el mismo.

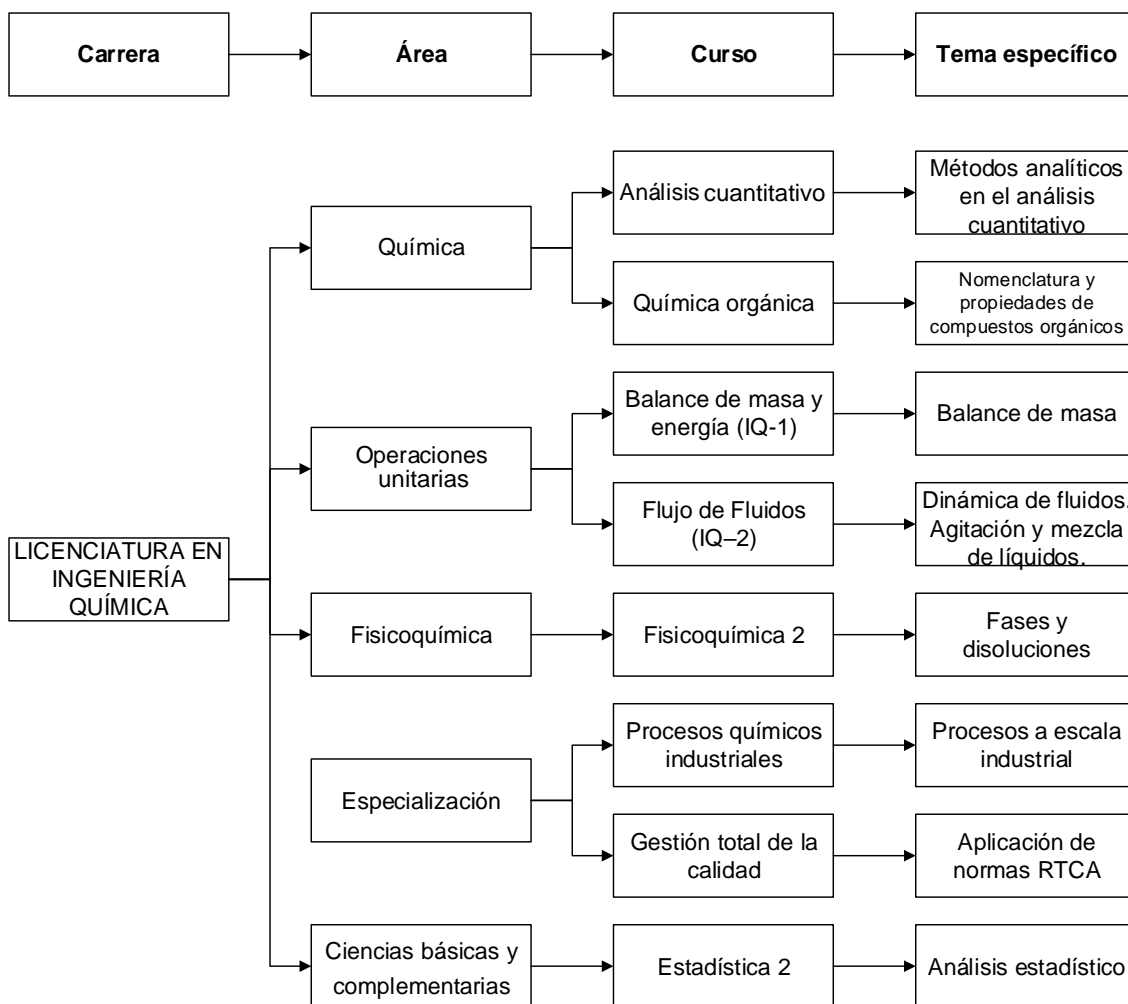
## BIBLIOGRAFÍA

1. CASTILLO DE LEÓN, Darío Virgilio. *Buenas prácticas de manufactura e informe 32*. Departamento de Regulación y Control de Productos Farmacéuticos y Afines. Ministerio de Salud Pública y Asistencia Social. Guatemala: MSPAS, 68 p.
2. CHALONER–LARSSON Gillian; ANDERSON, Roger. *Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF)*. Ginebra: OMS. 1998. 184 p.
3. Chile, Instituto de Salud Pública. *Guía de inspección de buenas prácticas de manufactura (gmp) para la industria de productos farmacéuticos. Capítulo 1: Validación*. Chile: Departamento de Control Nacional Subdepartamento de Fiscalización, julio 2010. 56 p.
4. FERNÁNDEZ, Jesús; CURT, María Dolores. *Métodos analíticos para aguas residuales. Capítulo 2: Determinación de la conductividad*. Chile. 128 p.
5. ICH harmonisation for better health. *Validation of analytical procedures: text and methodology Q2 (R1)*. Estados Unidos, noviembre de 2005. 23 p.
6. Organización Mundial de la Salud. *Informe 32: Comité de expertos en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas*. Ginebra: OMS, 1992. 138 p.

7. PAPPA. Horacio N. Ph.D., Sr. Scientist and Latin American Liaison. <1225> *Validation of compendial procedures*. U.S. Pharmacopeial Convention. Estados Unidos, 2008. 96 p.
8. Ministerio de Economía, Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología, Ministerio de Fomento, Industria y Comercio, Secretaria de Industria y Comercio, Ministerio de Economía, Industria y Comercio. *Reglamento Técnico Centroamericano: Productos farmacéuticos. Validación de métodos analíticos para la evaluación de la calidad de los medicamentos*. Reglamento Técnico Centroamericano. RTCA 11.03.39: 06. 2006. 8 p.
9. RUBINSON, Kenneth A.; RUBINSON, Judith F. *Análisis Instrumental*. Madrid: Pearson Educación, 2001. 872 p.
10. SANZ SÁNCHEZ, Eduardo. *Validación de limpieza en la industria farmacéutica (y II)*. Johnson & Johnson. España: McNeil Ibérica S.L.U., diciembre, 2005. 124 p.

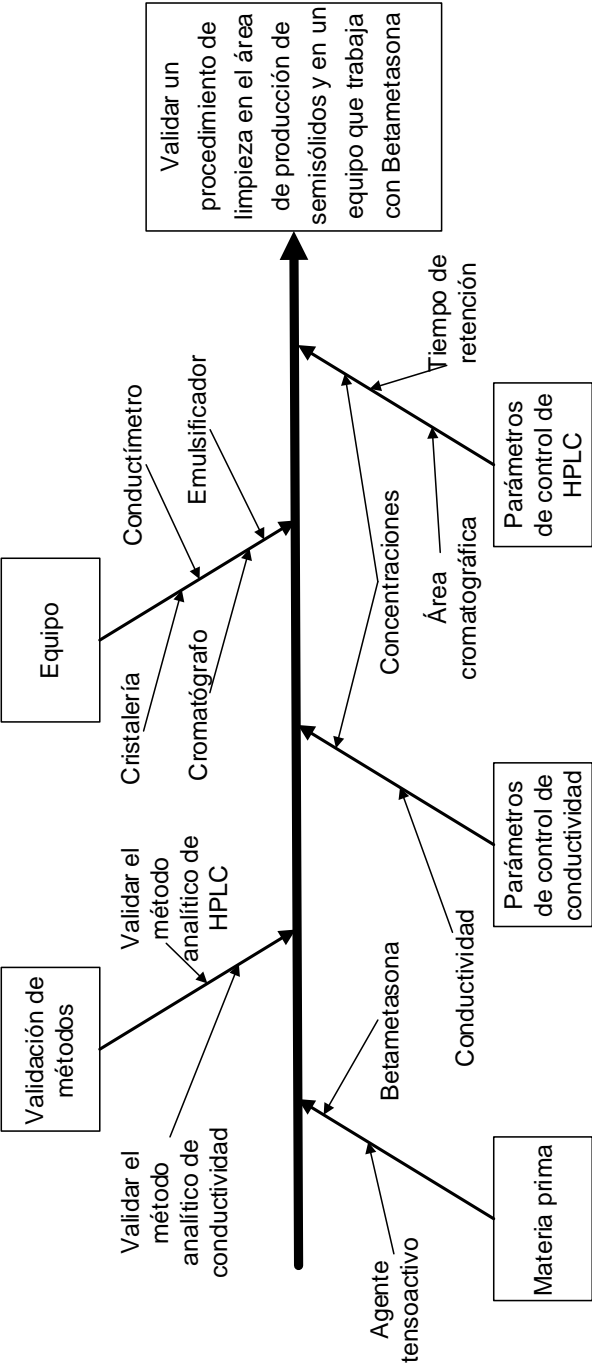
# APÉNDICES

Apéndice 1. **Tabla de requisitos académicos**



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 2. Diagrama de Ishikawa



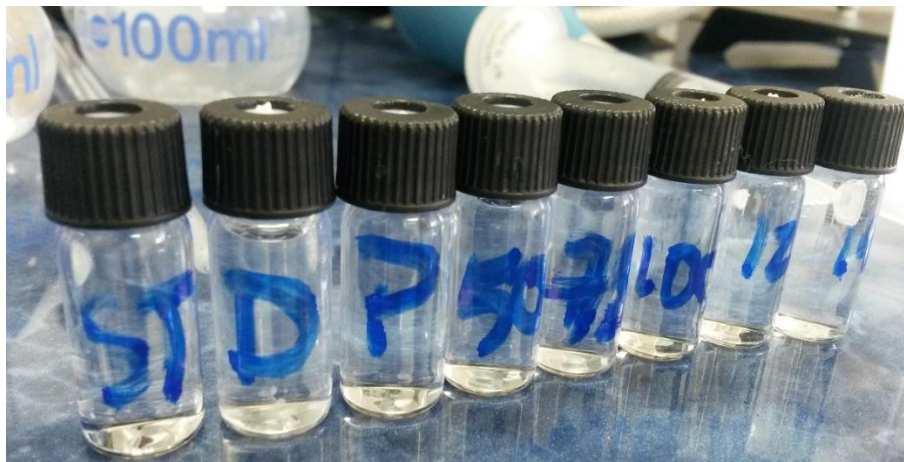
Fuente: elaboración propia.

### Apéndice 3. Equipo de emulsificación



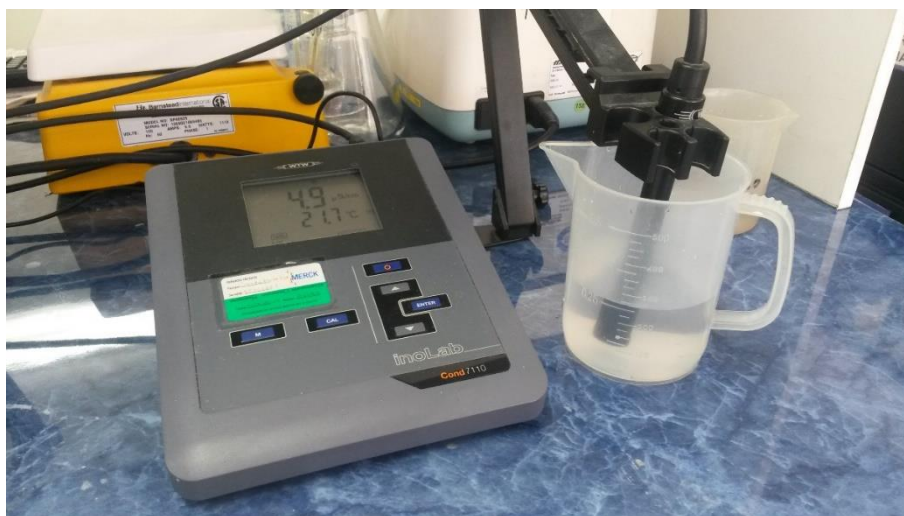
Fuente: área de semisólidos, planta de producción, Pharmalat, S. A.

Apéndice 4. **Muestras para la validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia**



Fuente: laboratorio de Control de Calidad, Pharmalat, S.A.

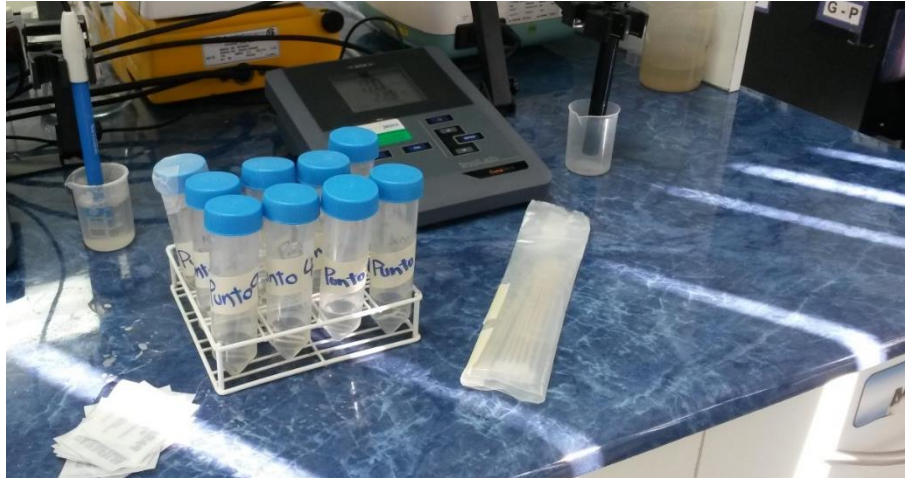
Apéndice 5. **Conductivímetro utilizado para el análisis de las muestras**



Fuente: laboratorio de Control de Calidad, Pharmalat, S.A.



Apéndice 6. **Tubos para toma de muestra por medio del método de hisopado**



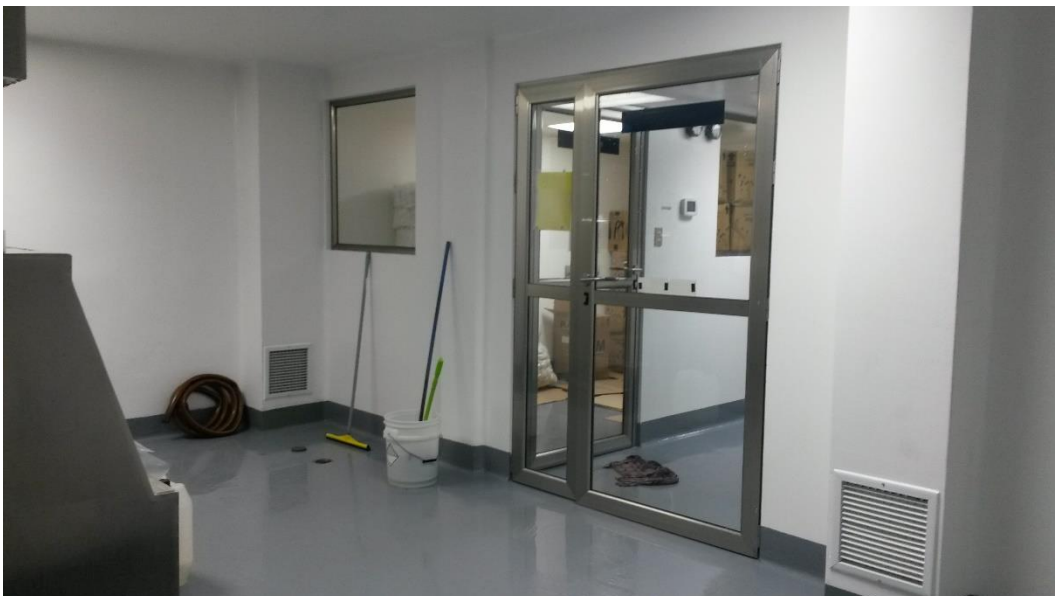
Fuente: laboratorio de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Apéndice 7. **Crema de gentamicina, betametasona y clotrimazol comercial**



Fuente: laboratorio de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Apéndice 8. **Realización de procedimientos de limpieza de área y equipo**



Fuente: área de semisólidos, planta de producción, Pharmalat, S. A.

Apéndice 9. **Toma de muestras para analizar la cantidad de betametasona presente al finalizar la limpieza**



Fuente: área de semisólidos, planta de producción, Pharmalat, S. A.



# ANEXOS

## 1. Parámetros para definir según la categoría de los métodos analíticos

### Anexo 1. Datos requeridos para la validación

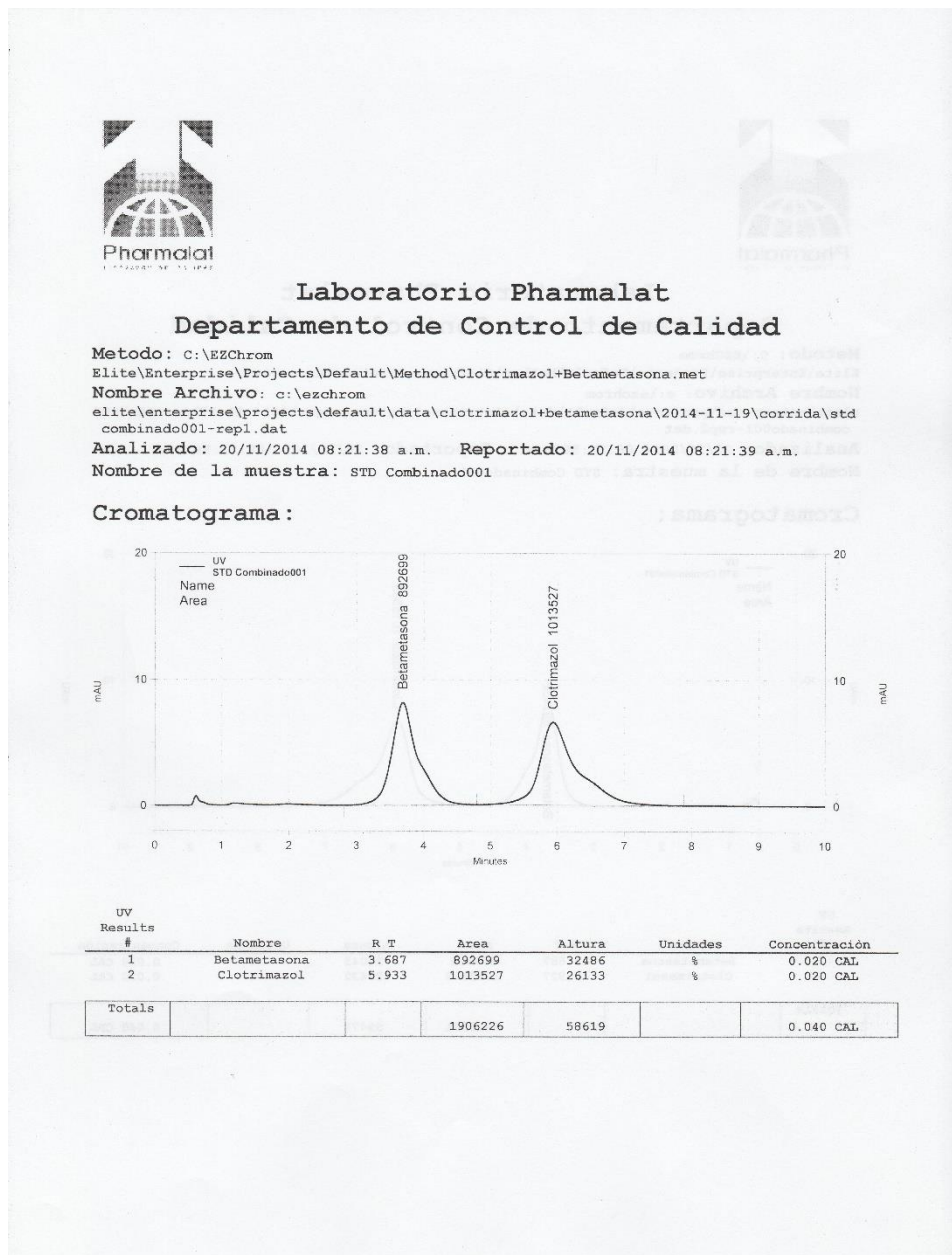
Características de Desempeño Analítico	Categoría II				Categoría IV
	Categoría I	Prueba de Límite Cuantitativa	Prueba de Límite Cualitativa	Categoría III	
Exactitud	Sí	Sí	*	*	No
Precisión	Sí	Sí	No	Sí	No
Especificidad	Sí	Sí	Sí	*	Sí
Límite de detección	No	No	Sí	*	No
Límite de cuantificación	No	Sí	No	*	No
Linealidad	Sí	Sí	No	*	No
Intervalo	Sí	Sí	*	*	No

\* Pueden requerirse, dependiendo de la naturaleza de la prueba específica

Fuente: Reglamento Técnico Centroamericano (RTCA).

## 2. Validación del método analítico de cromatografía líquida de alta eficacia

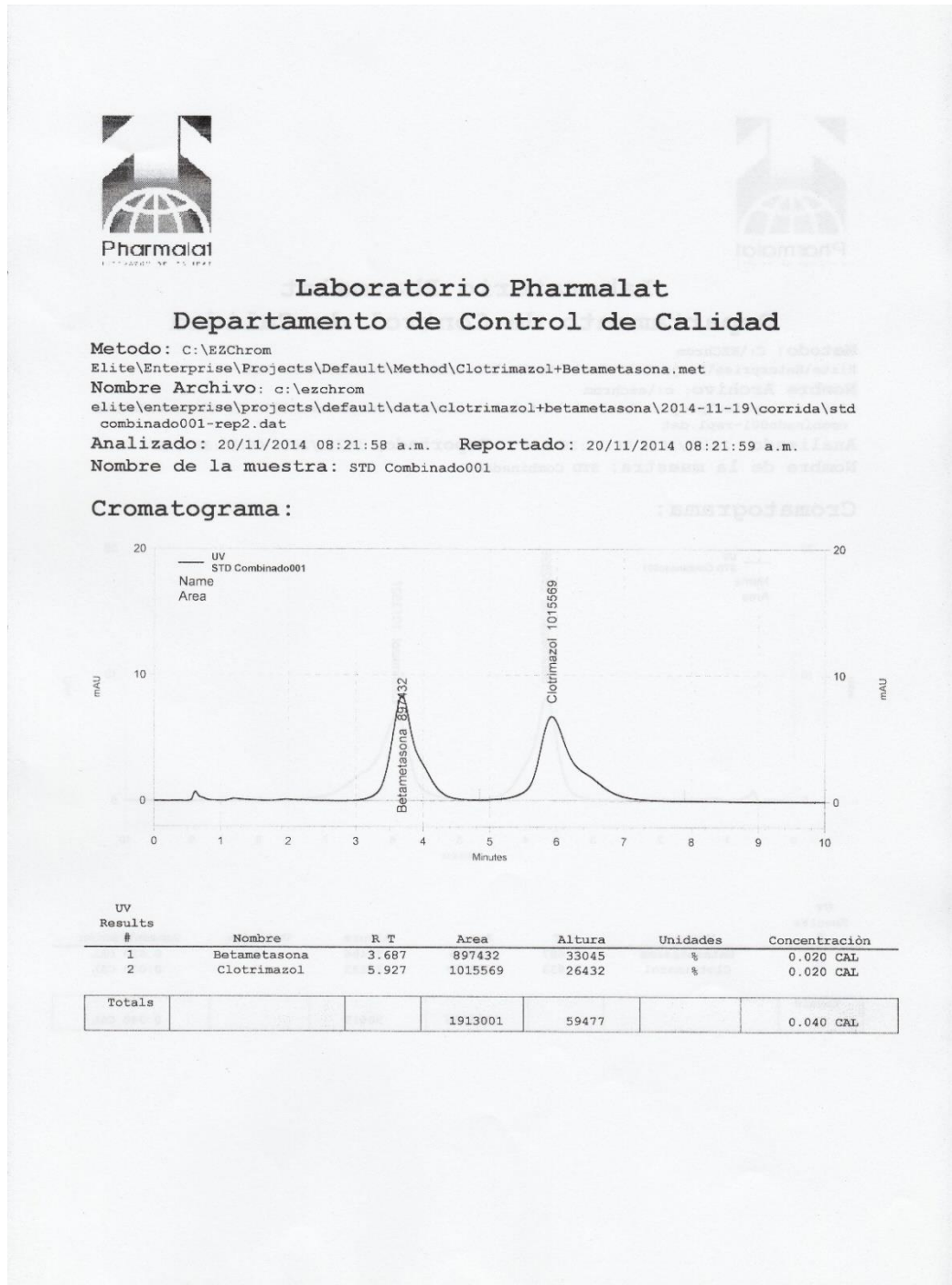
### Anexo 1. Cromatograma de muestra estándar, corrida 1



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

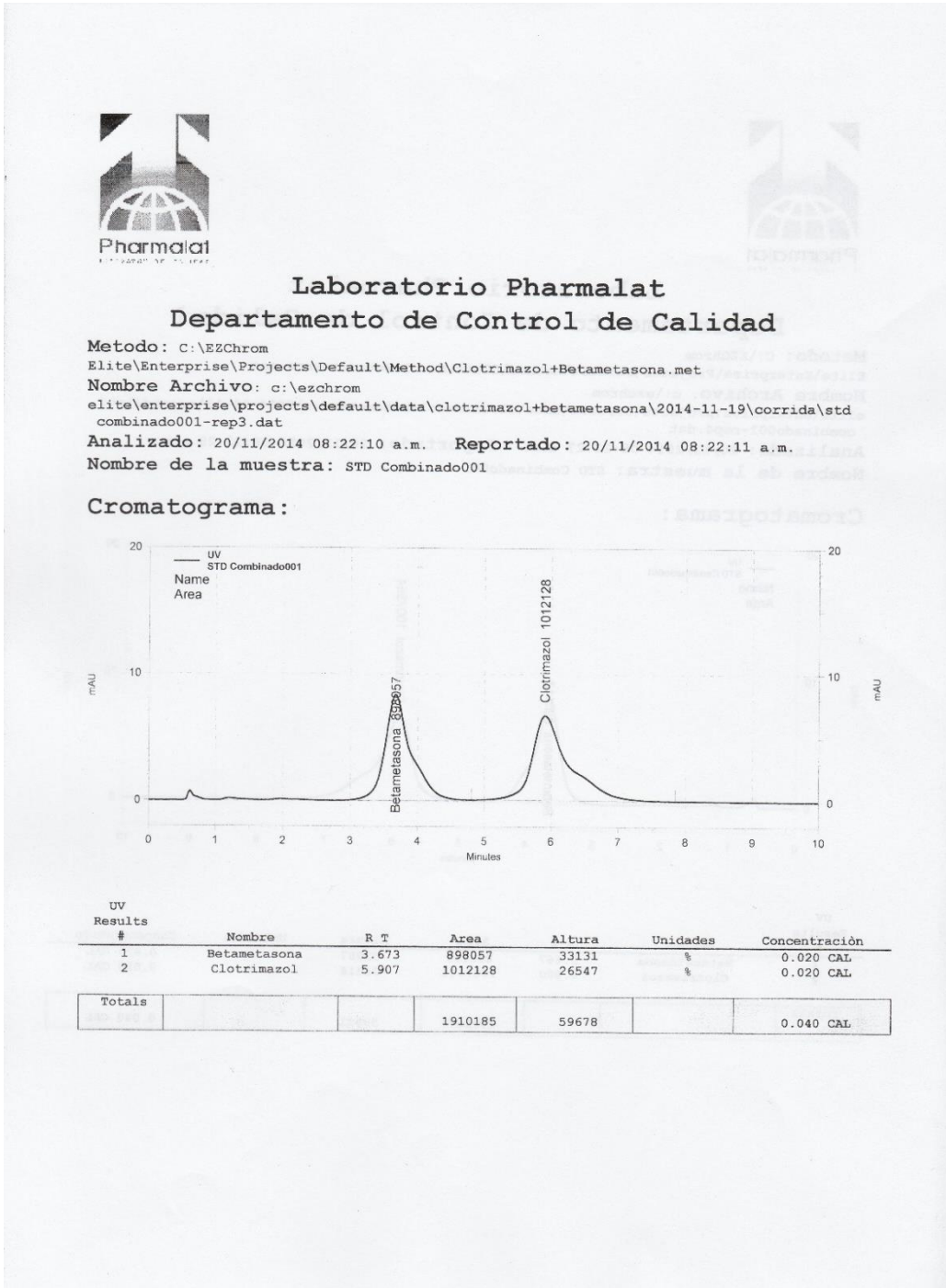


Anexo 2. Cromatograma de muestra estándar, corrida 2



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

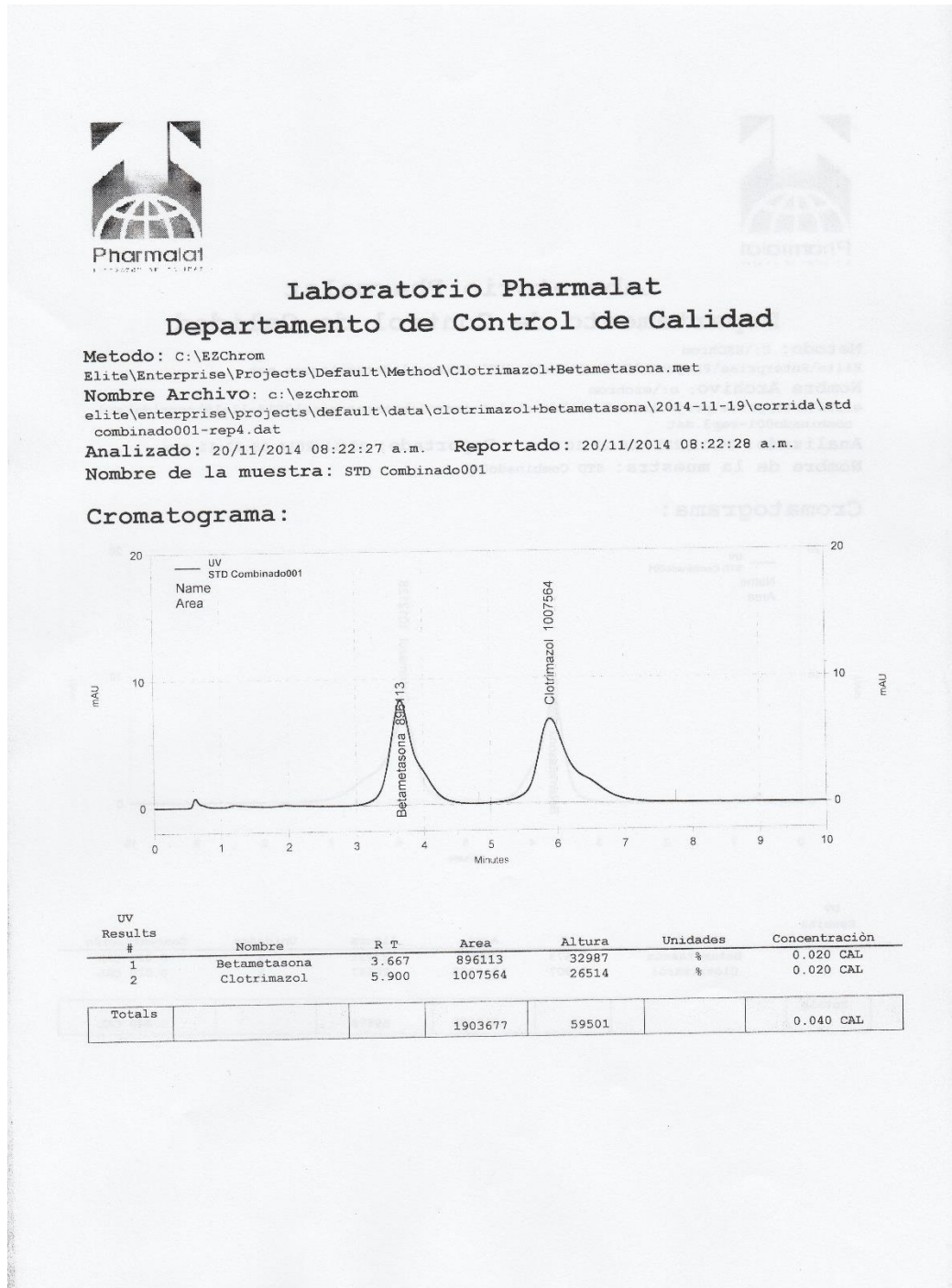
Anexo 3. Cromatograma de muestra estándar, corrida 3



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

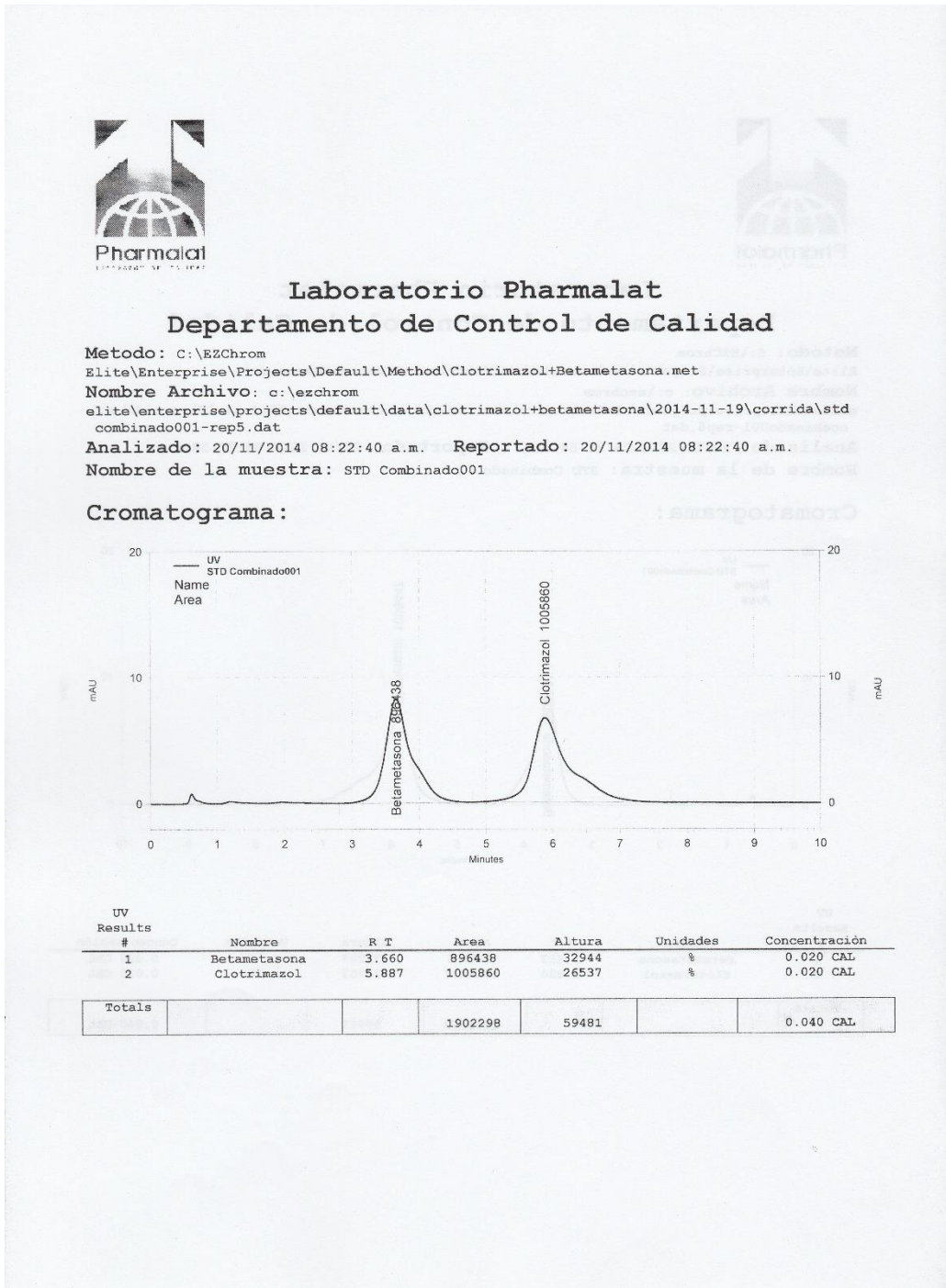


Anexo 4. Cromatograma de muestra estándar 2, corrida 1



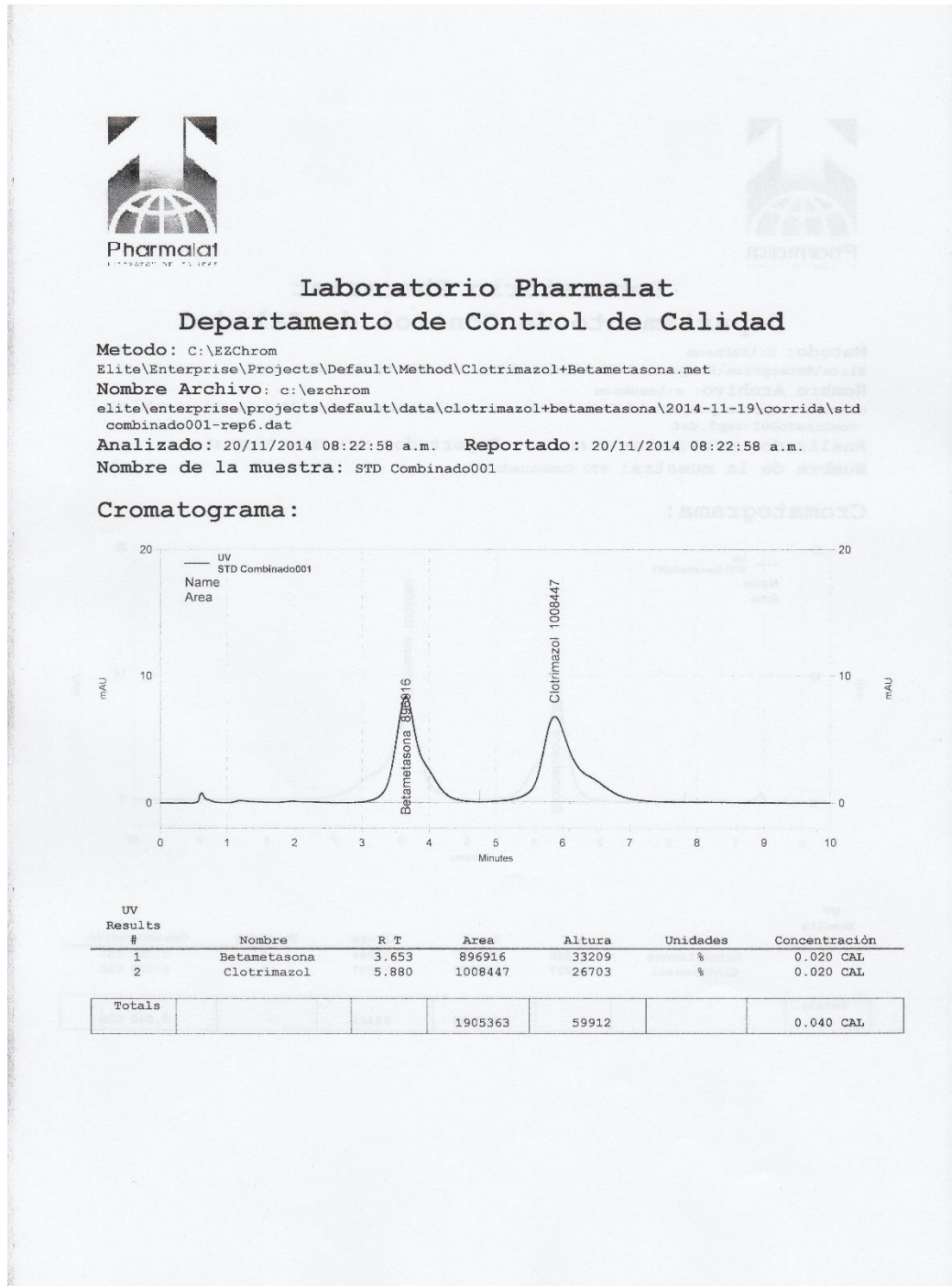
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 5. Cromatograma de muestra estándar 2, corrida 2

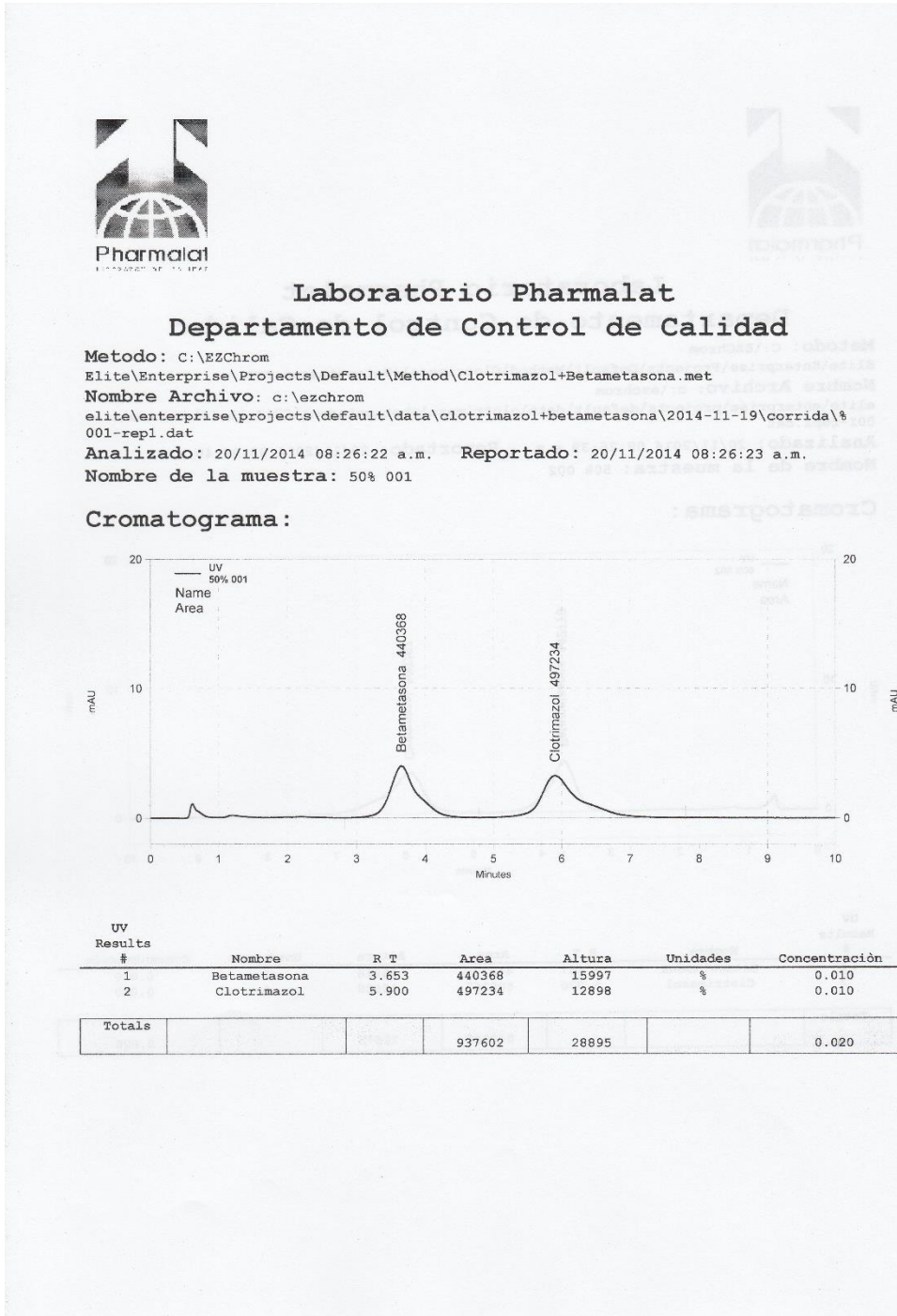


Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 6. Cromatograma de muestra estándar 2, corrida 3



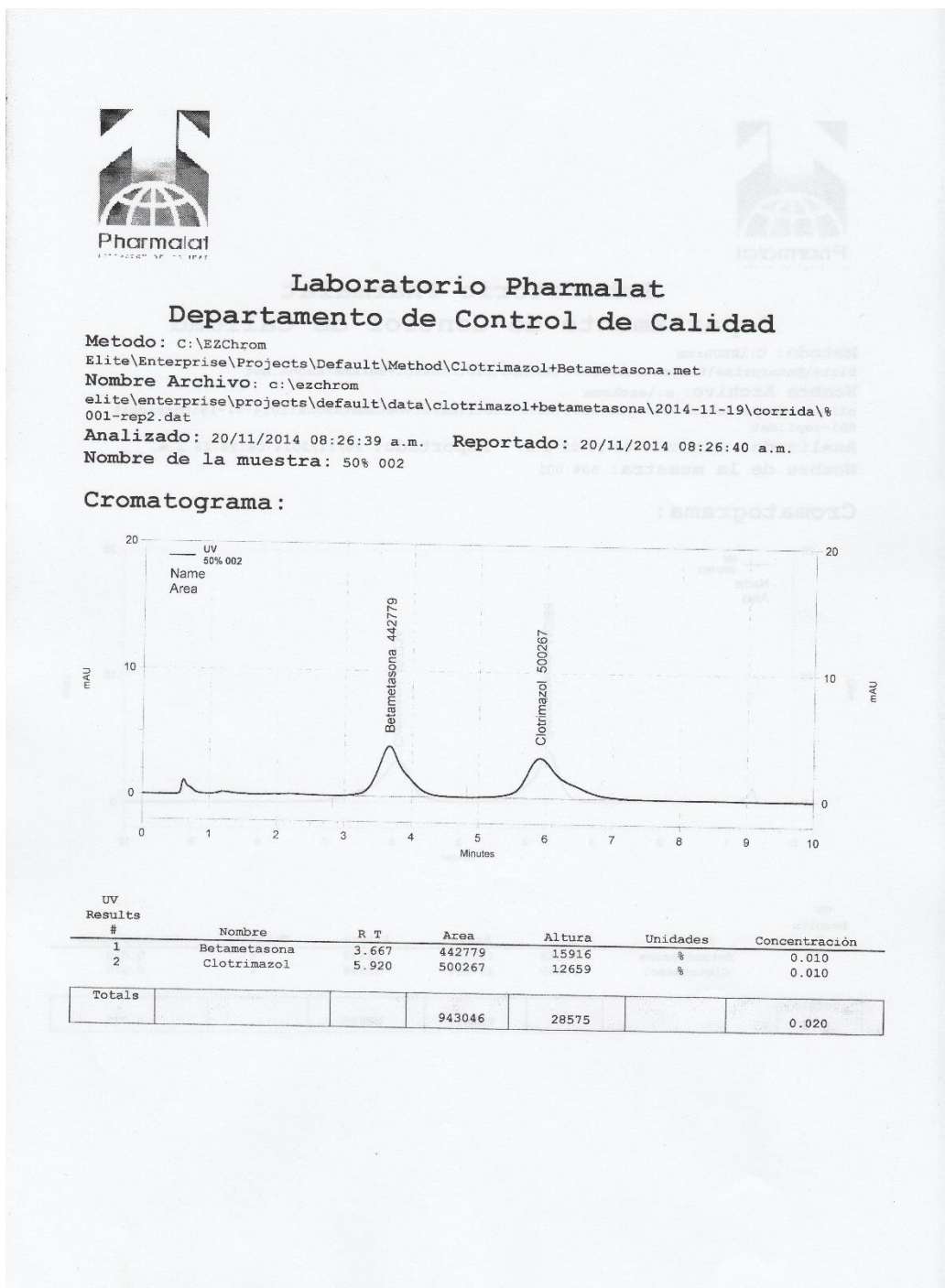
Anexo 7. Cromatograma de muestra 1, al 50 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



Anexo 8. Cromatograma de muestra 2, al 50 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

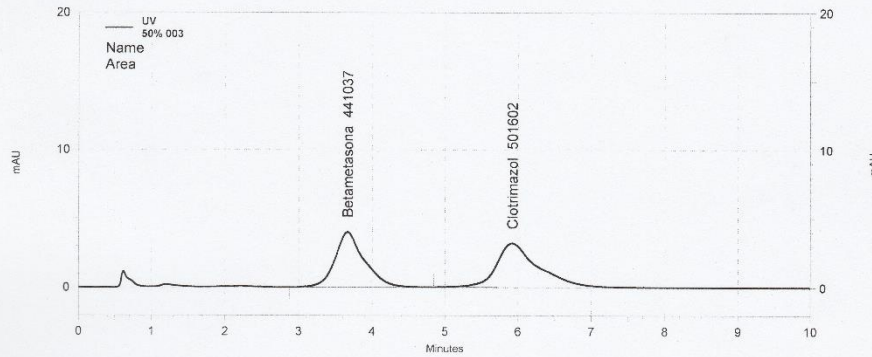
Anexo 9. **Cromatograma de muestra 3, al 50 %**



**Laboratorio Pharmalat**  
**Departamento de Control de Calidad**

Metodo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: c:\ezchrom  
 elite\enterprise\projects\default\data\clotrimazol+betametasona\2014-11-19\corrida\%  
 001-rep3.dat  
 Analizado: 20/11/2014 08:26:48 a.m. Reportado: 20/11/2014 08:26:48 a.m.  
 Nombre de la muestra: 50% 003

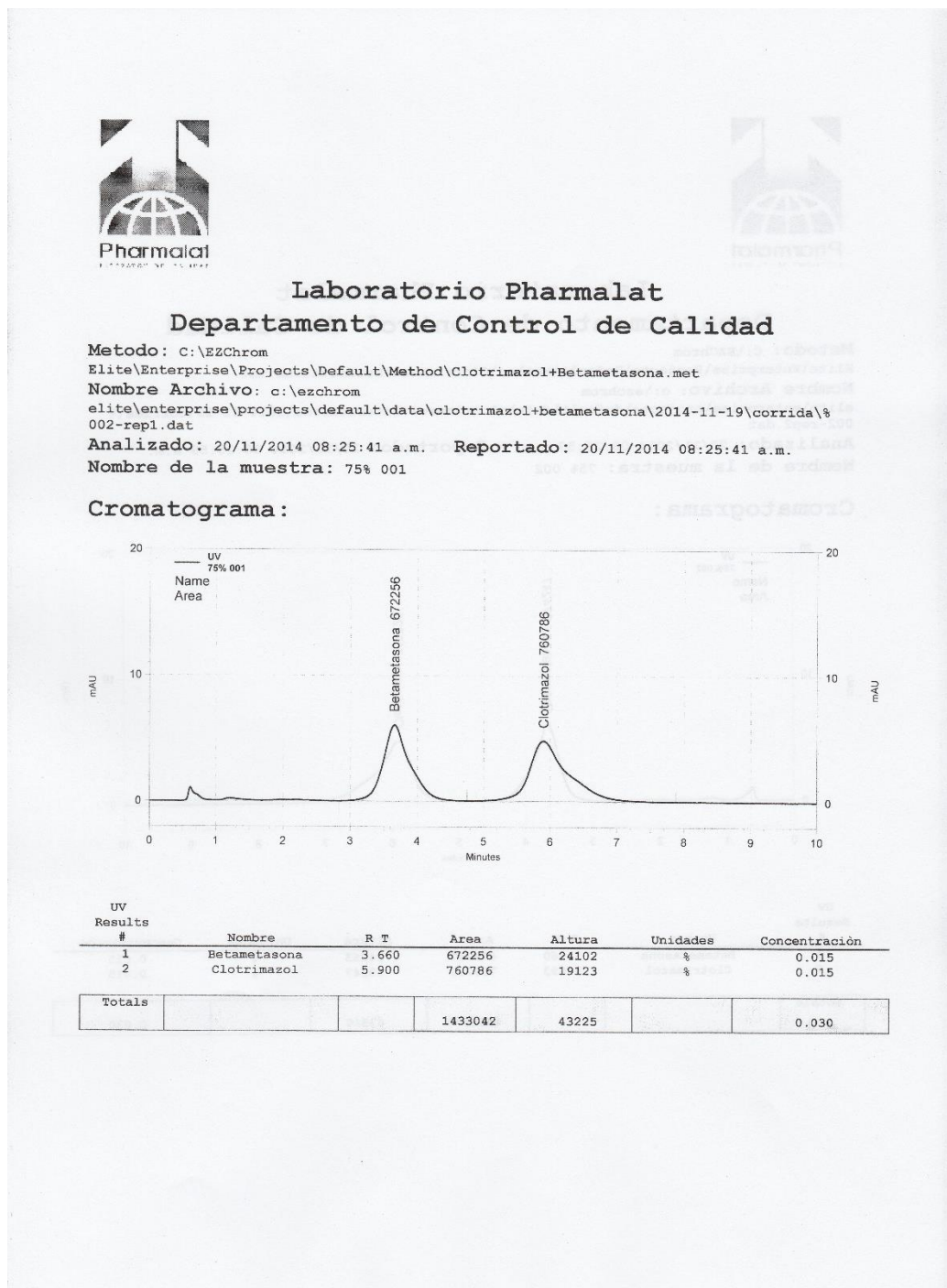
**Cromatograma:**



UV Results						
#	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	3.667	441037	15949	%	0.010
2	Clotrimazol	5.927	501602	12658	%	0.010
Totals			942639	28607		0.020

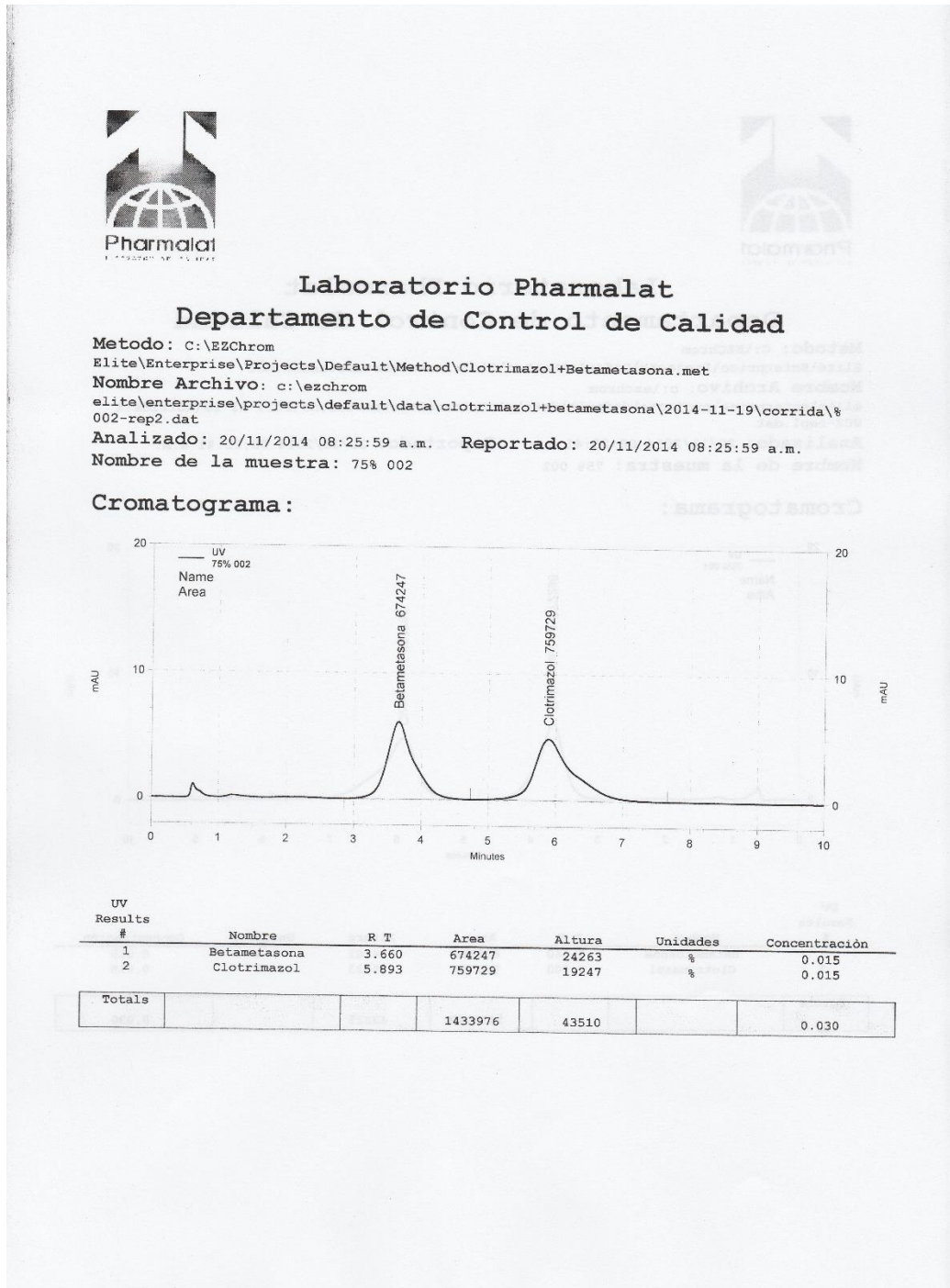
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 10. Cromatograma de muestra 1, al 75 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 11. Cromatograma de muestra 2, al 75 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



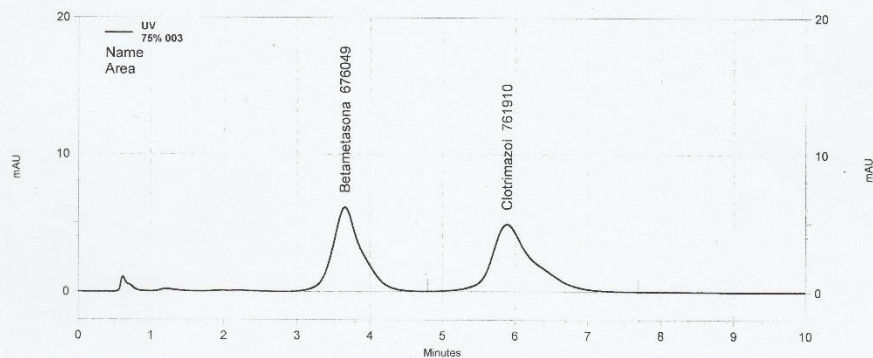
## Anexo 12. Cromatograma de muestra 3, al 75 %



### Laboratorio Pharmalat Departamento de Control de Calidad

Metodo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: c:\ezchrom  
 elite\enterprise\projects\default\data\clotrimazol+betametasona\2014-11-19\corrida\%  
 002-rep3.dat  
 Analizado: 20/11/2014 08:26:08 a.m. Reportado: 20/11/2014 08:26:09 a.m.  
 Nombre de la muestra: 75% 003

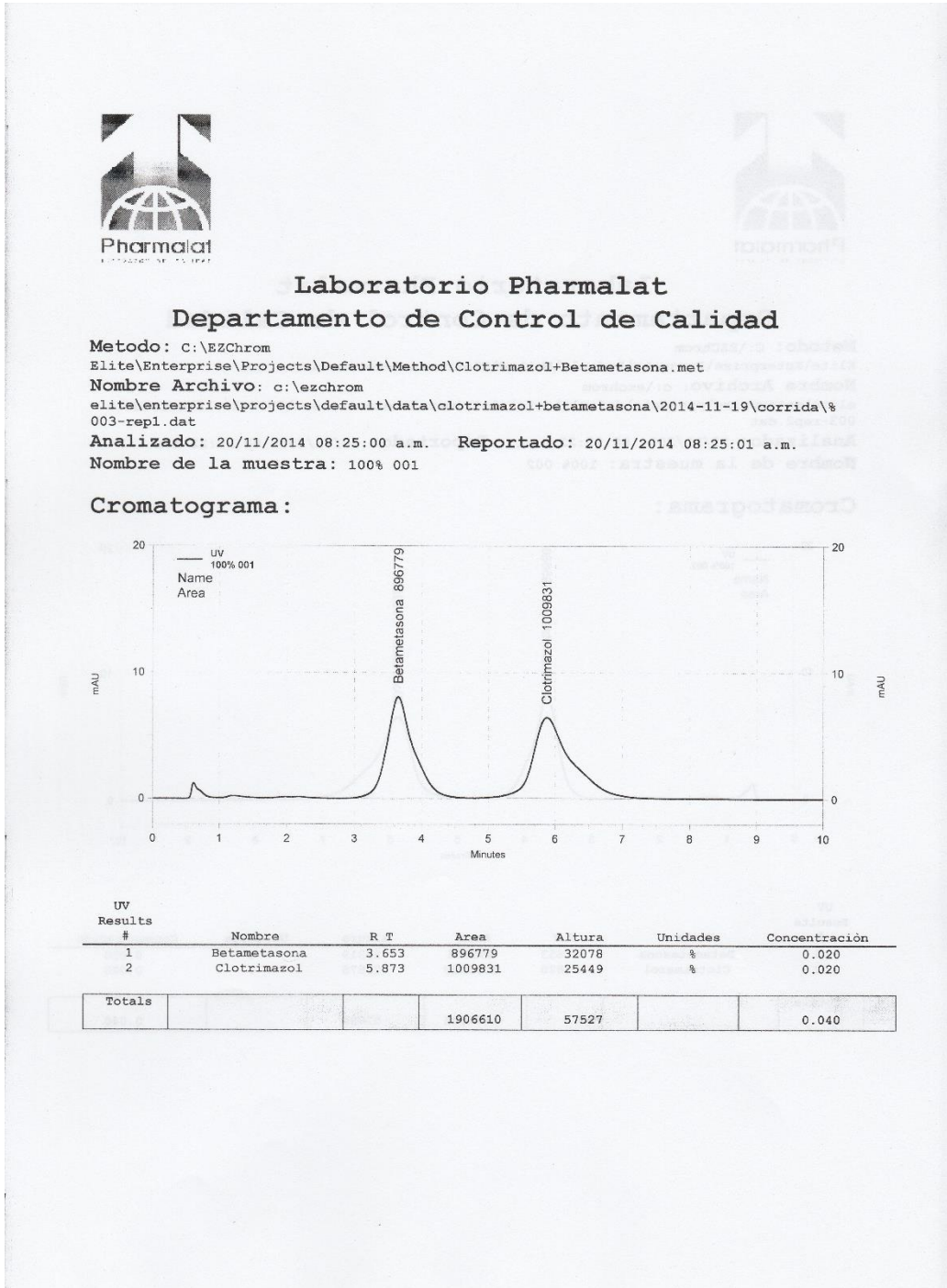
#### Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentraci3n
1	Betametasona	3.653	676049	24392	%	0.015
2	Clotrimazol	5.887	761910	19362	%	0.015
<b>Totals</b>			1437959	43754		0.030

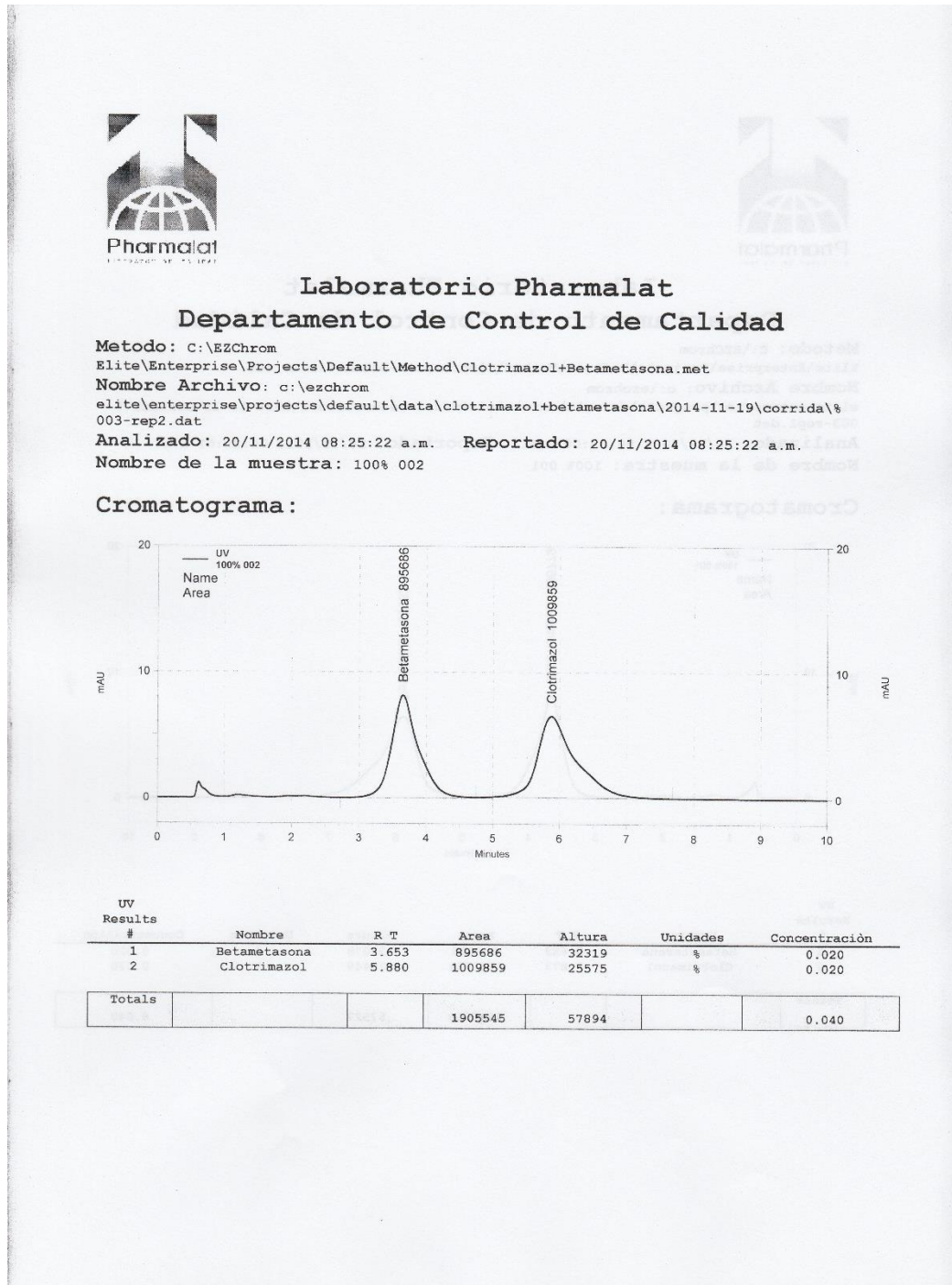
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 13. Cromatograma de muestra 1, al 100 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 14. Cromatograma de muestra 2, al 100 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

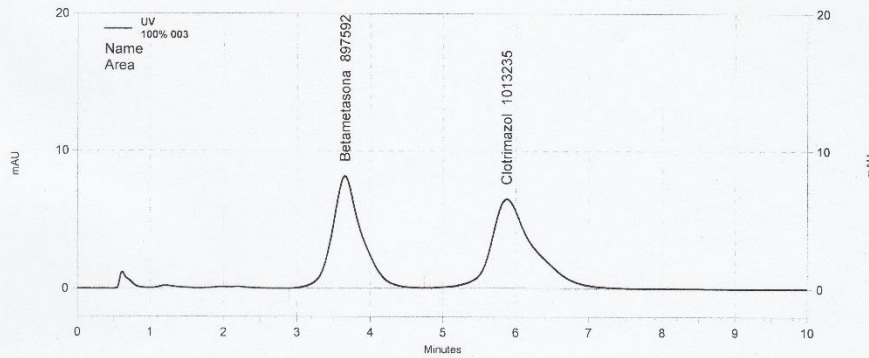
Anexo 15. Cromatograma de muestra 3, al 100 %



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Metodo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: c:\ezchrom  
elite\enterprise\projects\default\data\clotrimazol+betametasona\2014-11-19\corrída\%  
003-rep3.dat  
Analizado: 20/11/2014 08:25:26 a.m. Reportado: 20/11/2014 08:25:27 a.m.  
Nombre de la muestra: 100% 003

Cromatograma:

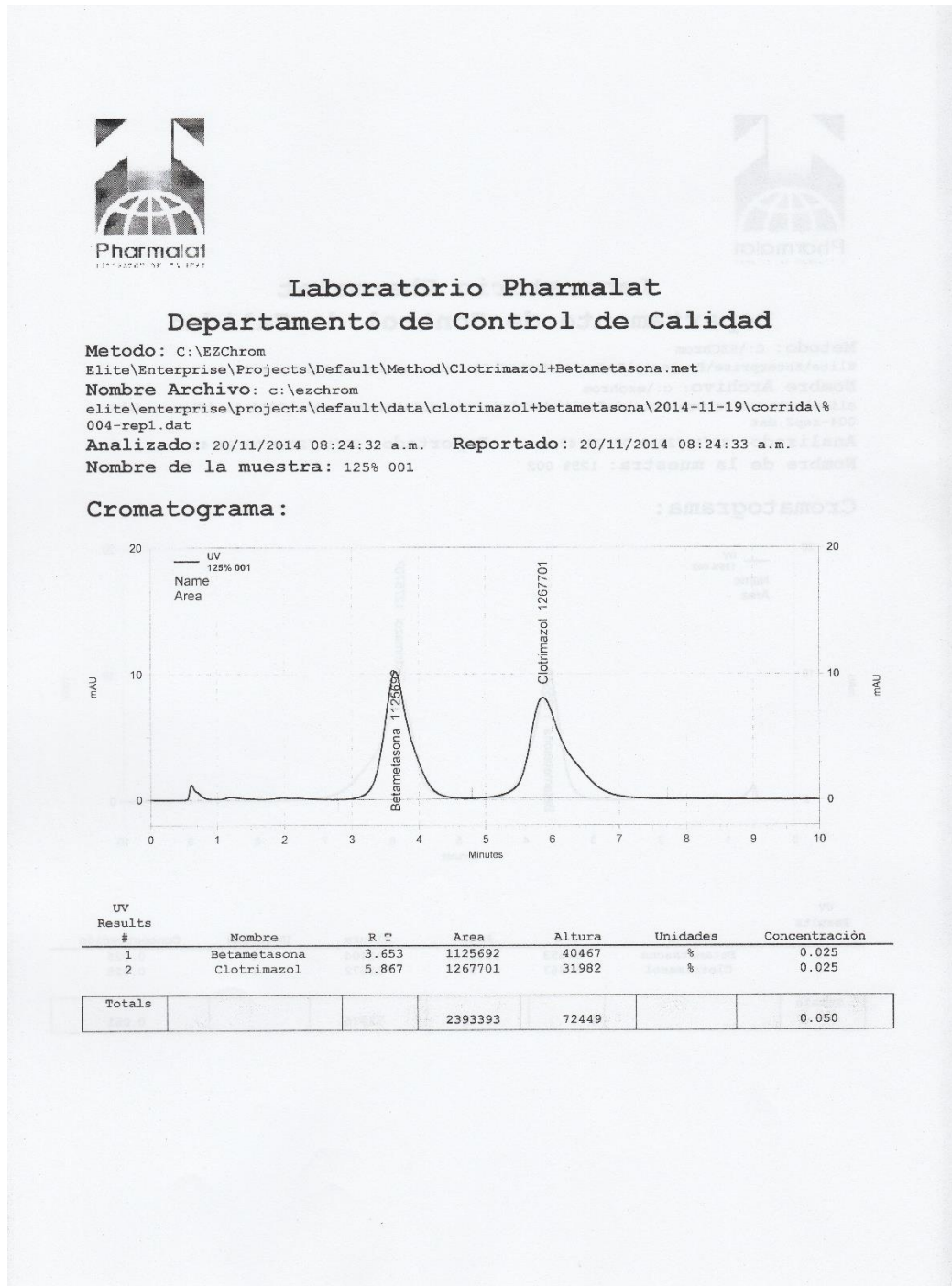


UV Results						
#	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	3.653	897592	32387	%	0.020
2	Clotrimazol	5.873	1013235	25593	%	0.020
Totals			1910827	57980		0.040

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

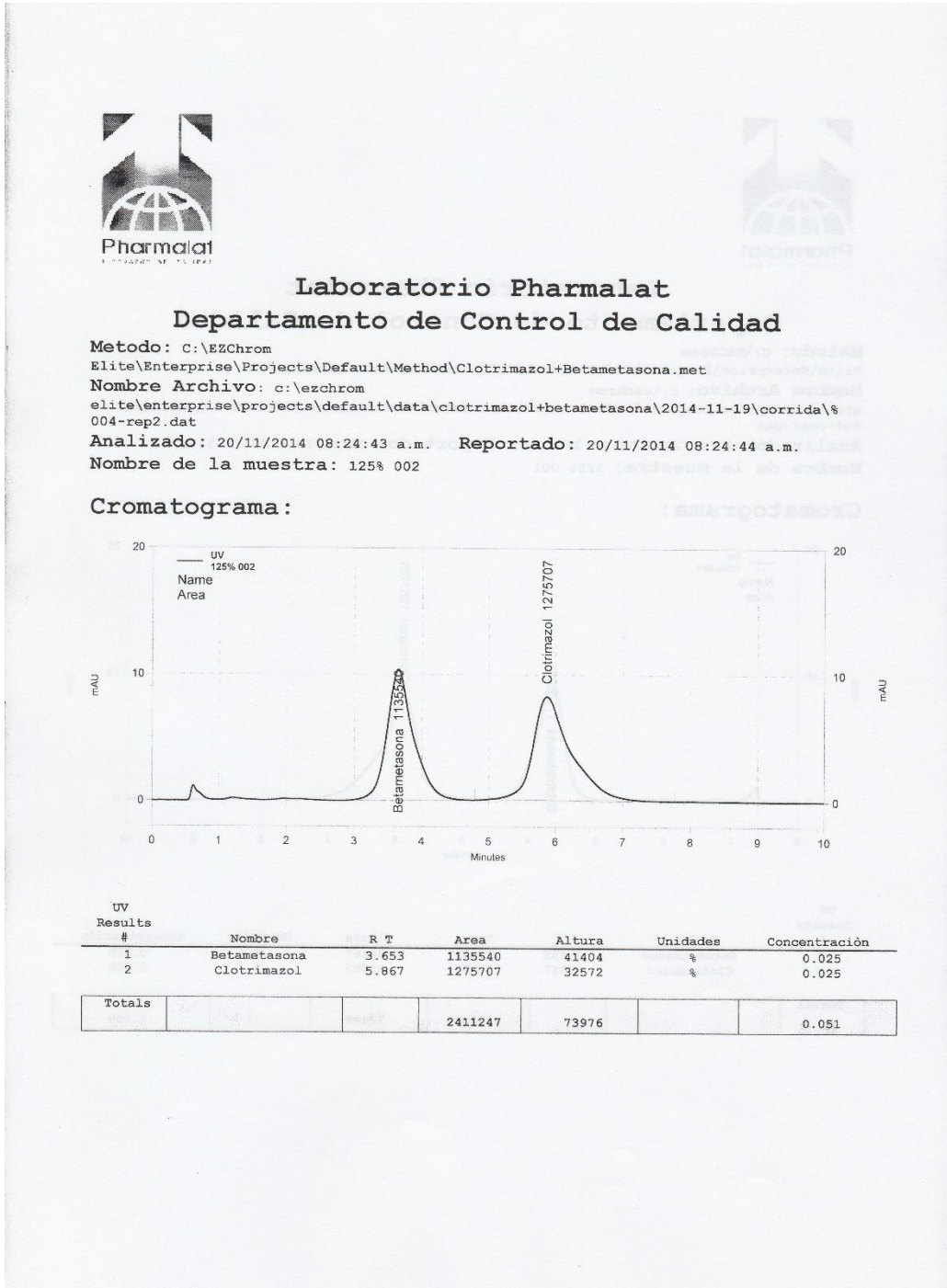


Anexo 16. Cromatograma de muestra 1, al 125 %



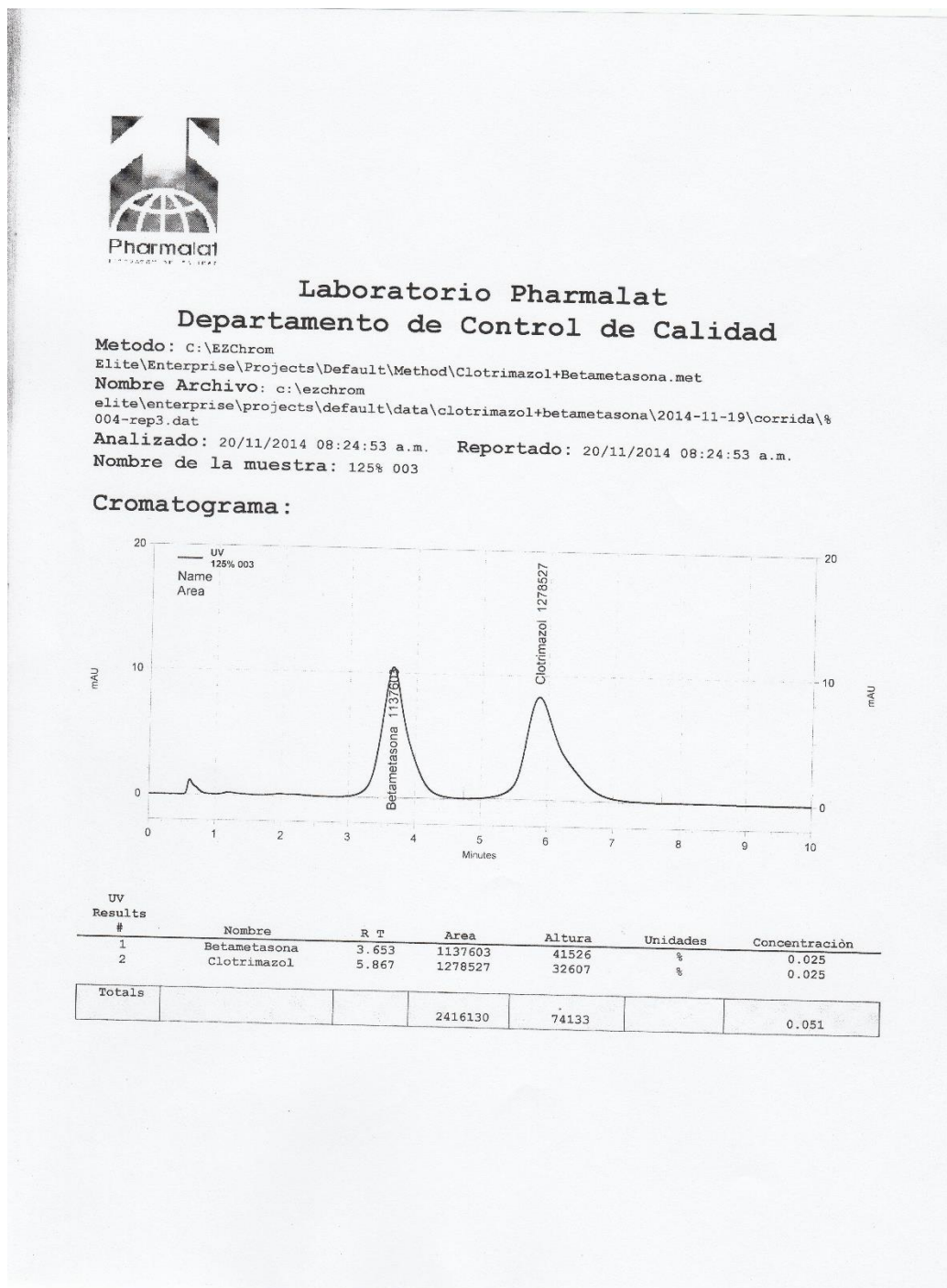
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 17. Cromatograma de muestra 2, al 125 %



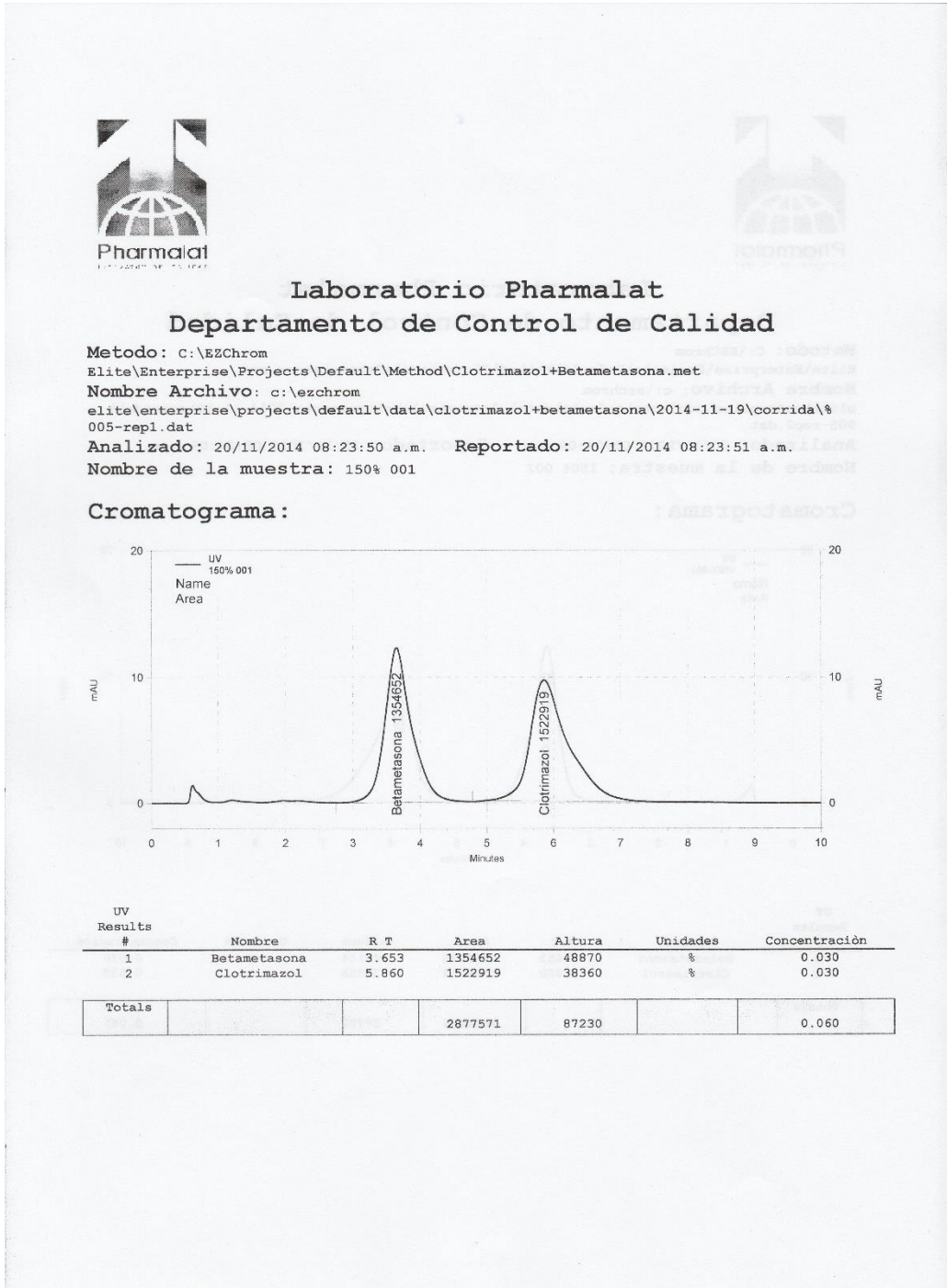
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 18. Cromatograma de muestra 3, al 125%



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

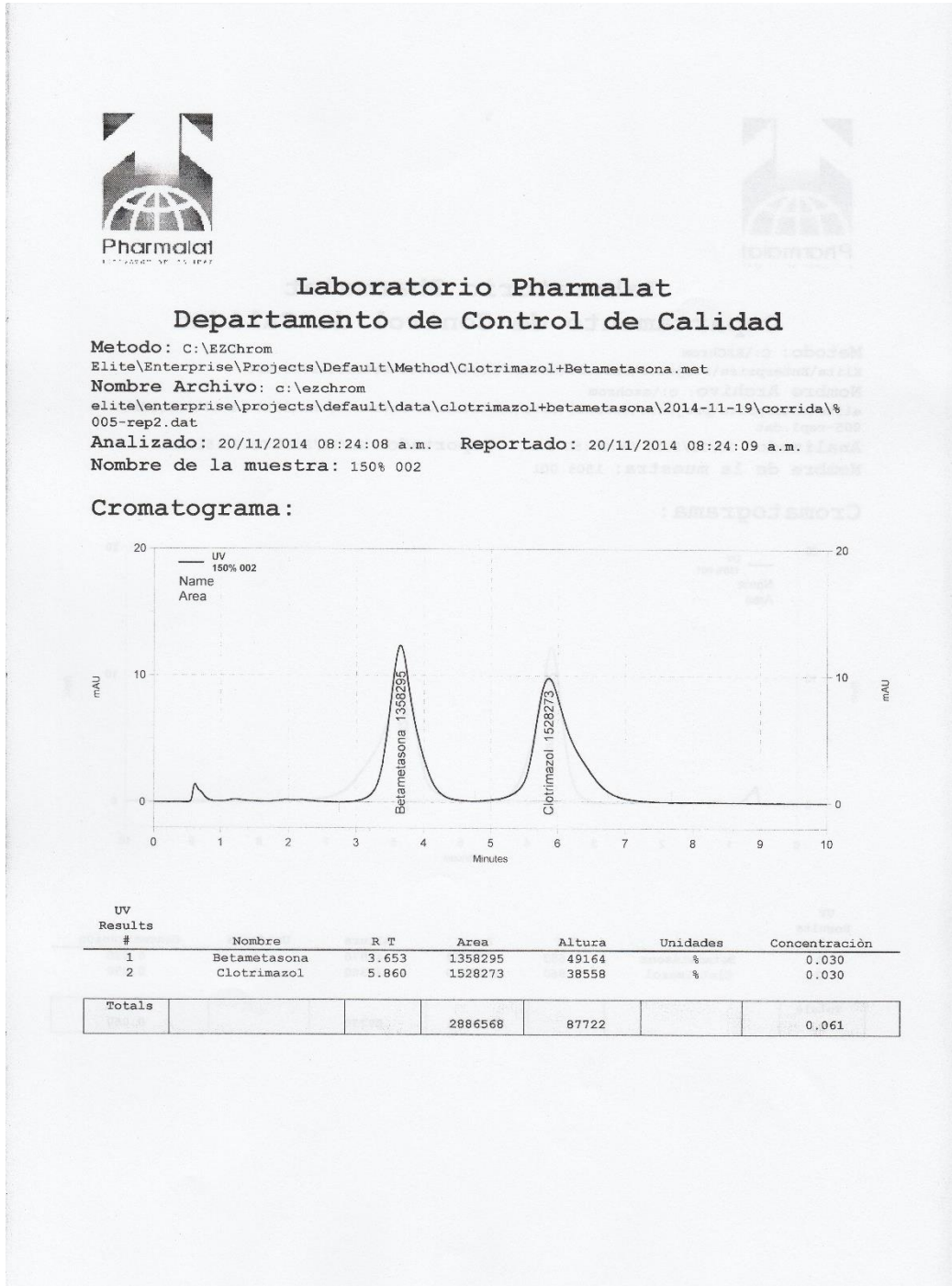
Anexo 19. Cromatograma de muestra 1, al 150 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



Anexo 20. Cromatograma de muestra 2, al 150 %



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

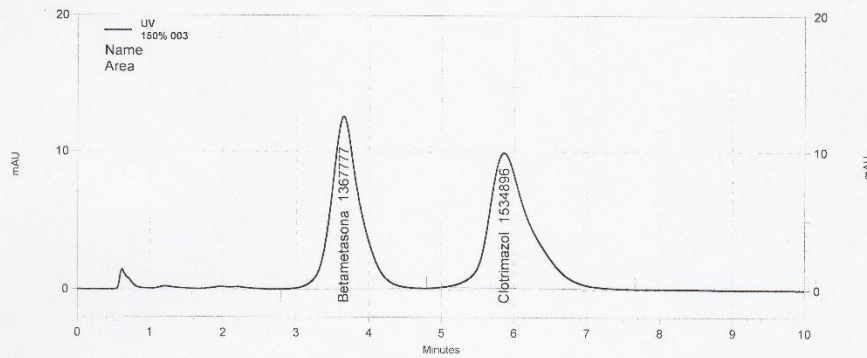
Anexo 21. Cromatograma de muestra 3, al 150 %



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Metodo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: c:\ezchrom  
elite\enterprise\projects\default\data\clotrimazol+betametasona\2014-11-19\corrida\%  
005-rep3.dat  
Analizado: 20/11/2014 08:24:18 a.m. Reportado: 20/11/2014 08:24:19 a.m.  
Nombre de la muestra: 150% 003

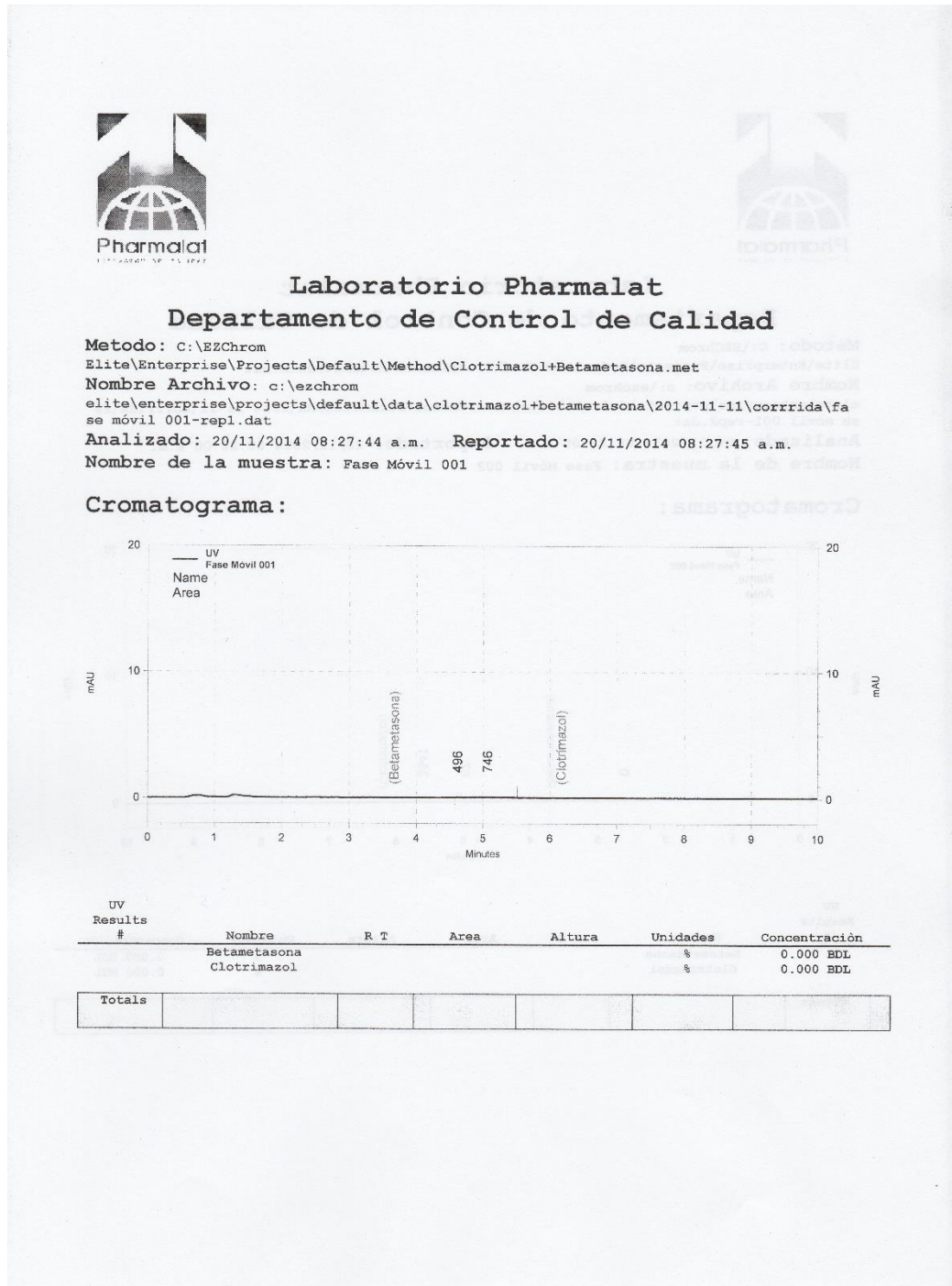
Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentraci3n
1	Betametasona	3.647	1367777	49983	%	0.031
2	Clotrimazol	5.860	1534896	39045	%	0.030
Totals			2902673	89028		0.061

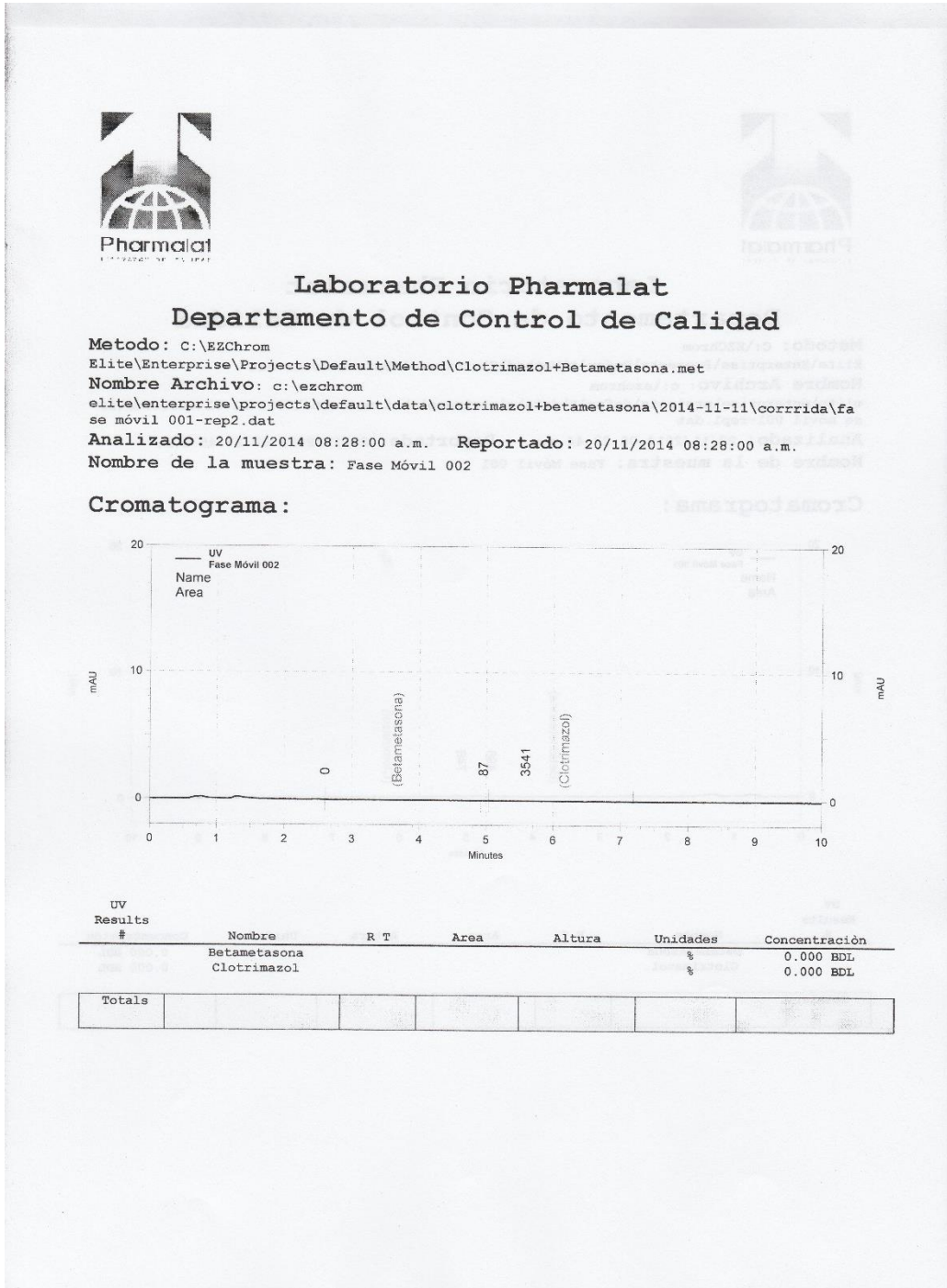
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 22. Cromatograma de fase móvil, corrida 1



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 23. Cromatograma de fase móvil, corrida 2



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



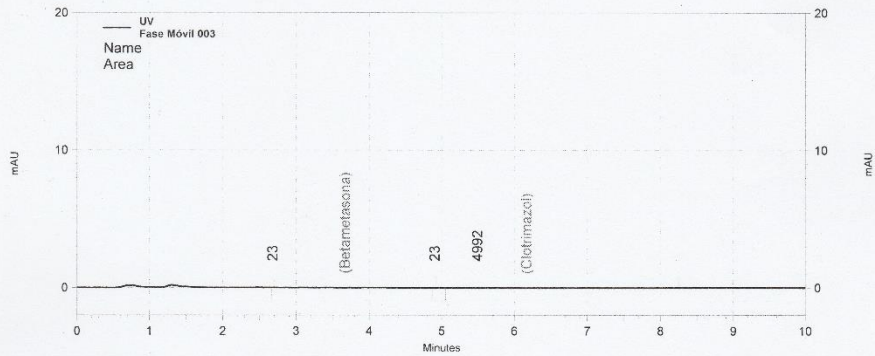
Anexo 24. Cromatograma de fase móvil, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Metodo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: c:\ezchrom  
elite\enterprise\projects\default\data\clotrimazol+betametasona\2014-11-11\corrída\fase móvil 001-rep3.dat  
Analizado: 20/11/2014 08:28:15 a.m. Reportado: 20/11/2014 08:28:15 a.m.  
Nombre de la muestra: Fase Móvil 003

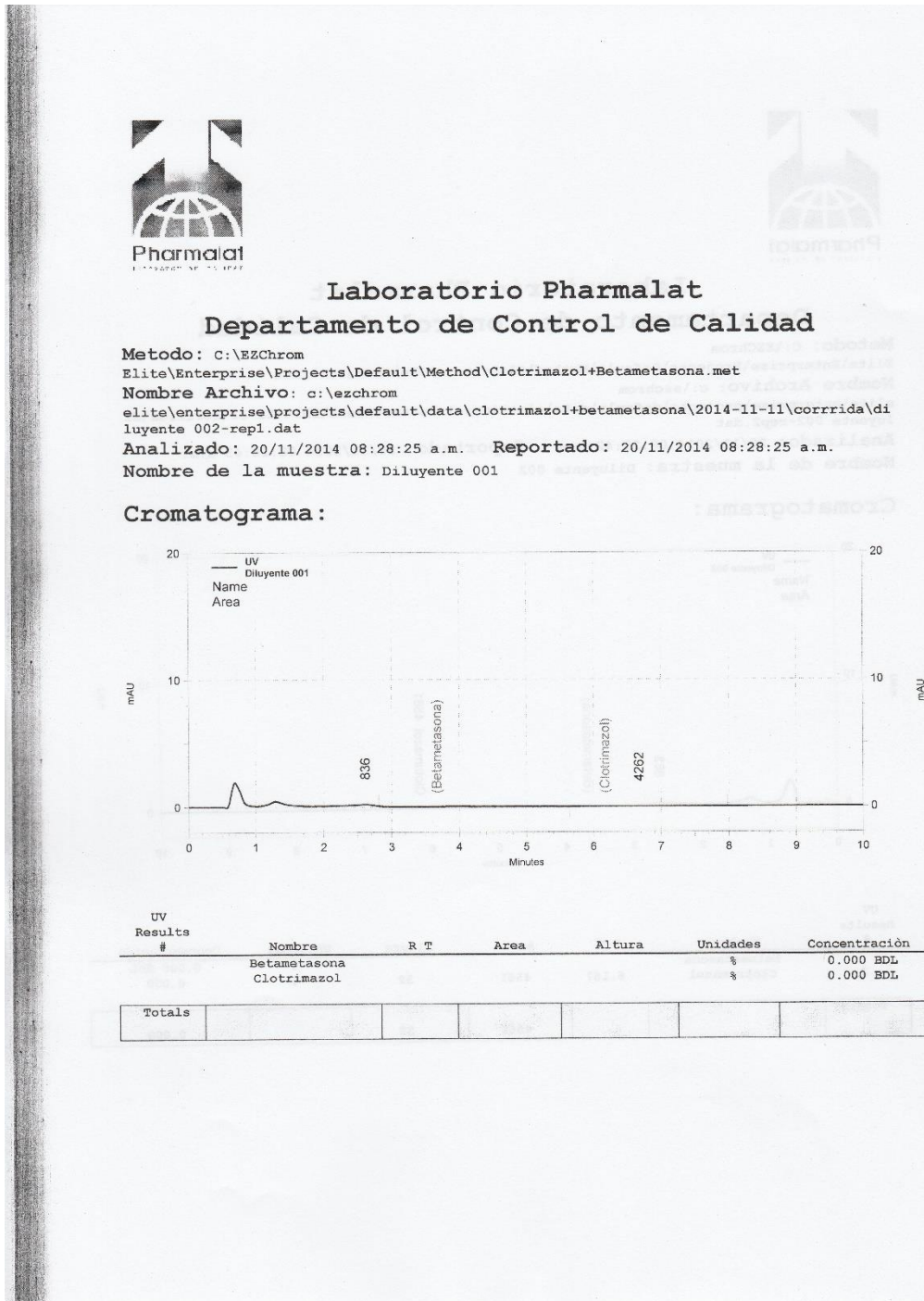
Cromatograma:



UV Results						
#	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				%	0.000 EDL
	Clotrimazol				%	0.000 EDL
Totals						

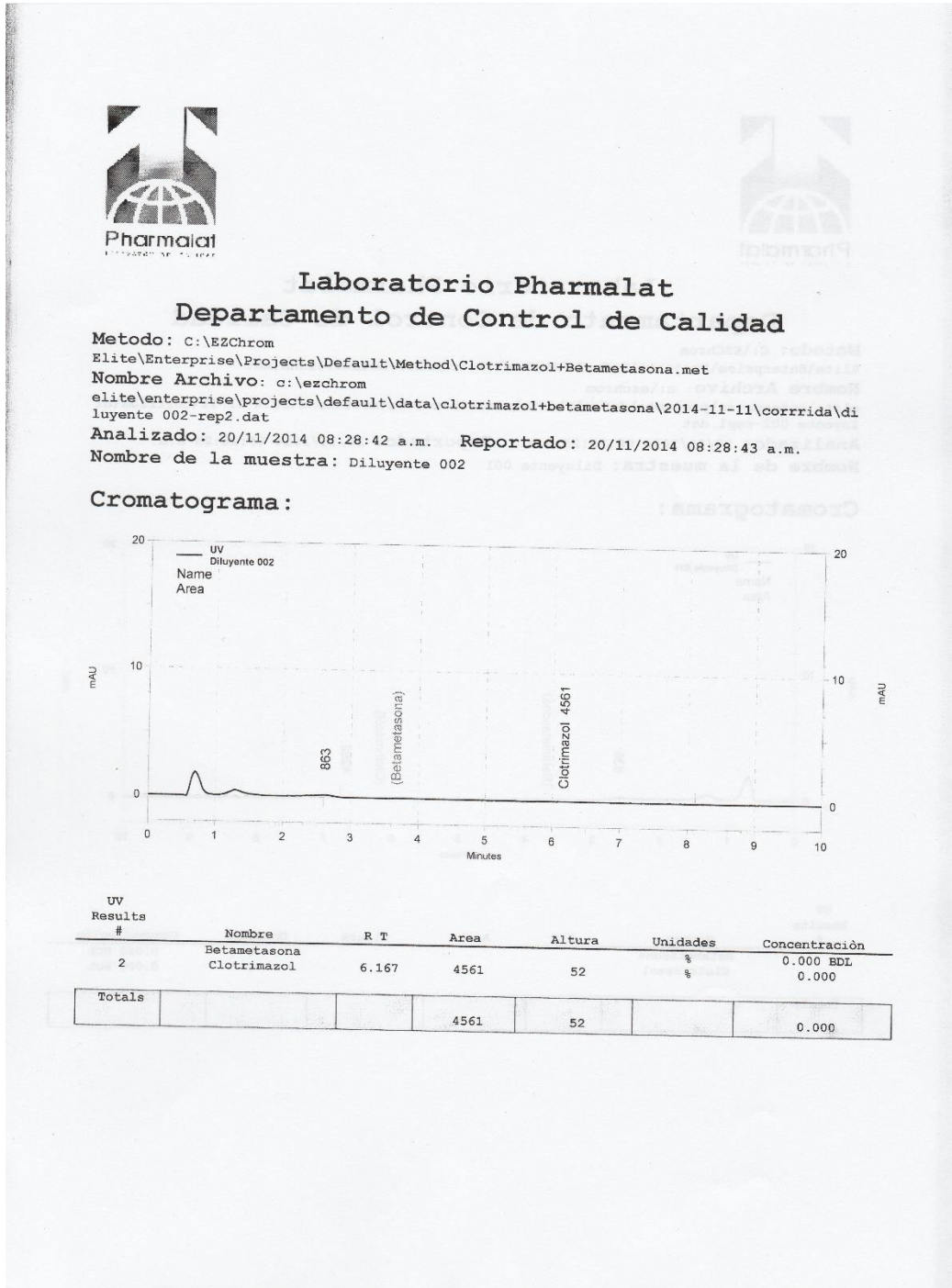
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 25. Cromatograma del diluyente, corrida 1



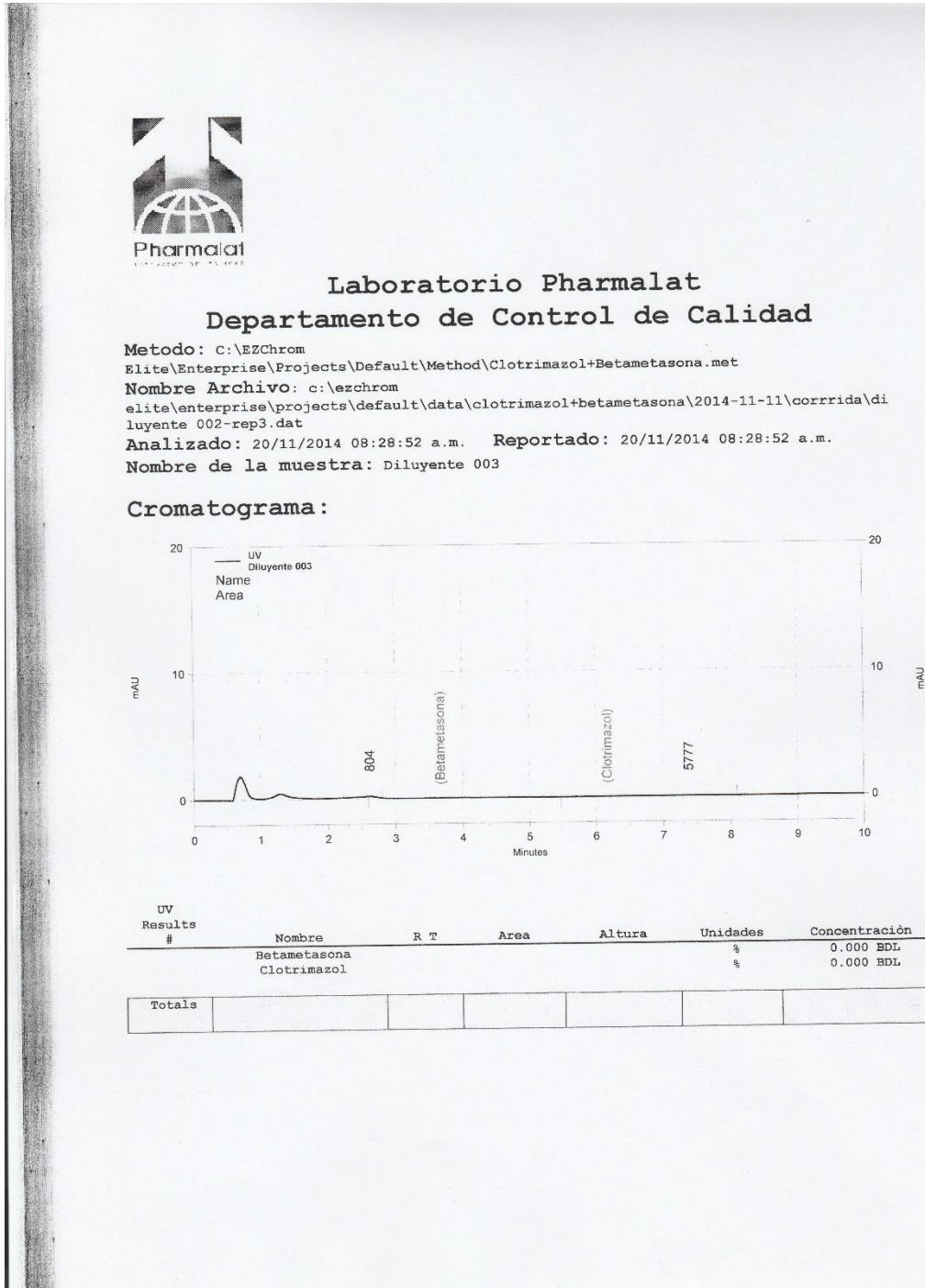
Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 26. Cromatograma del diluyente, corrida 2



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

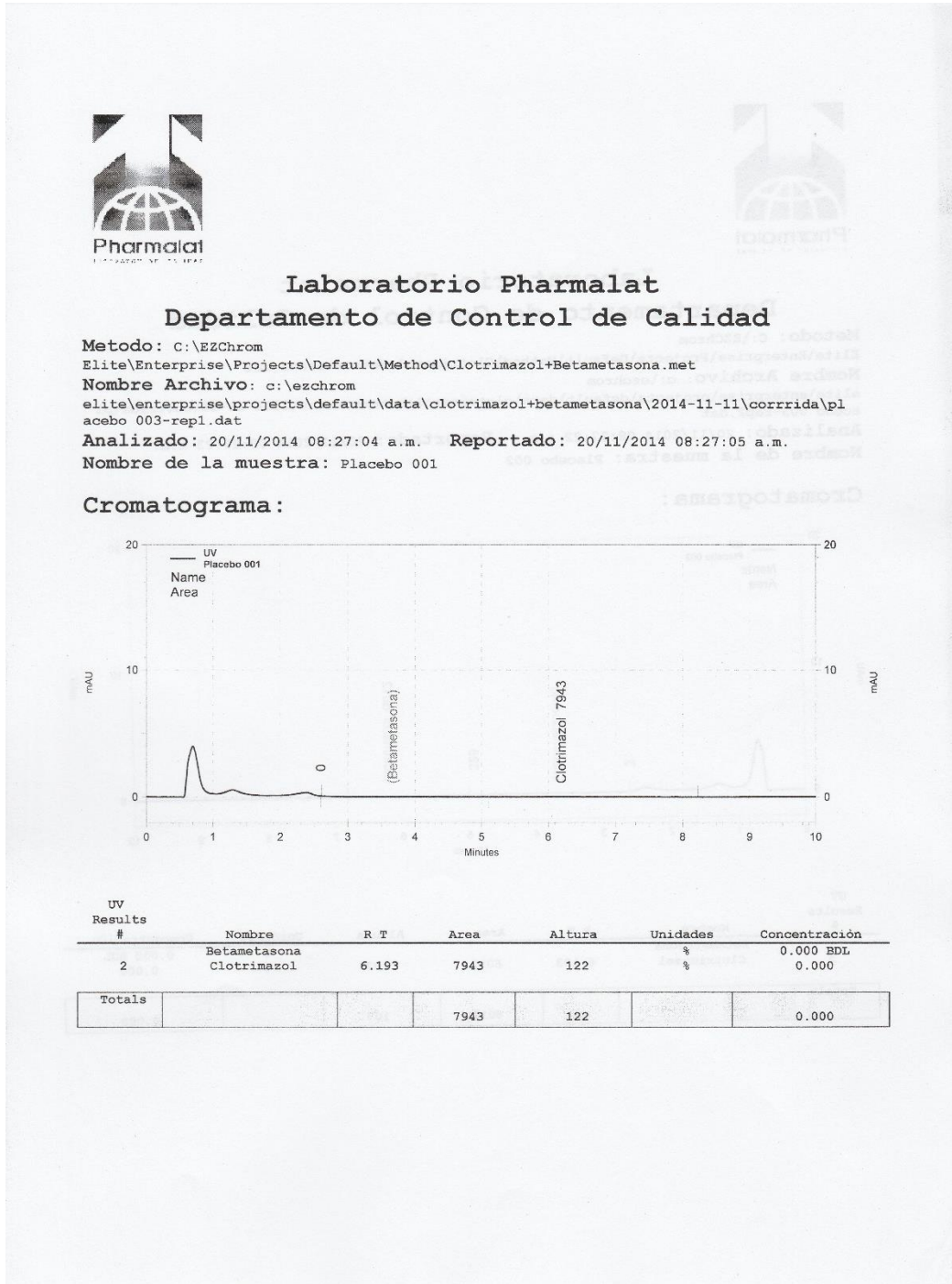
Anexo 27. Cromatograma del diluyente, corrida 3



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

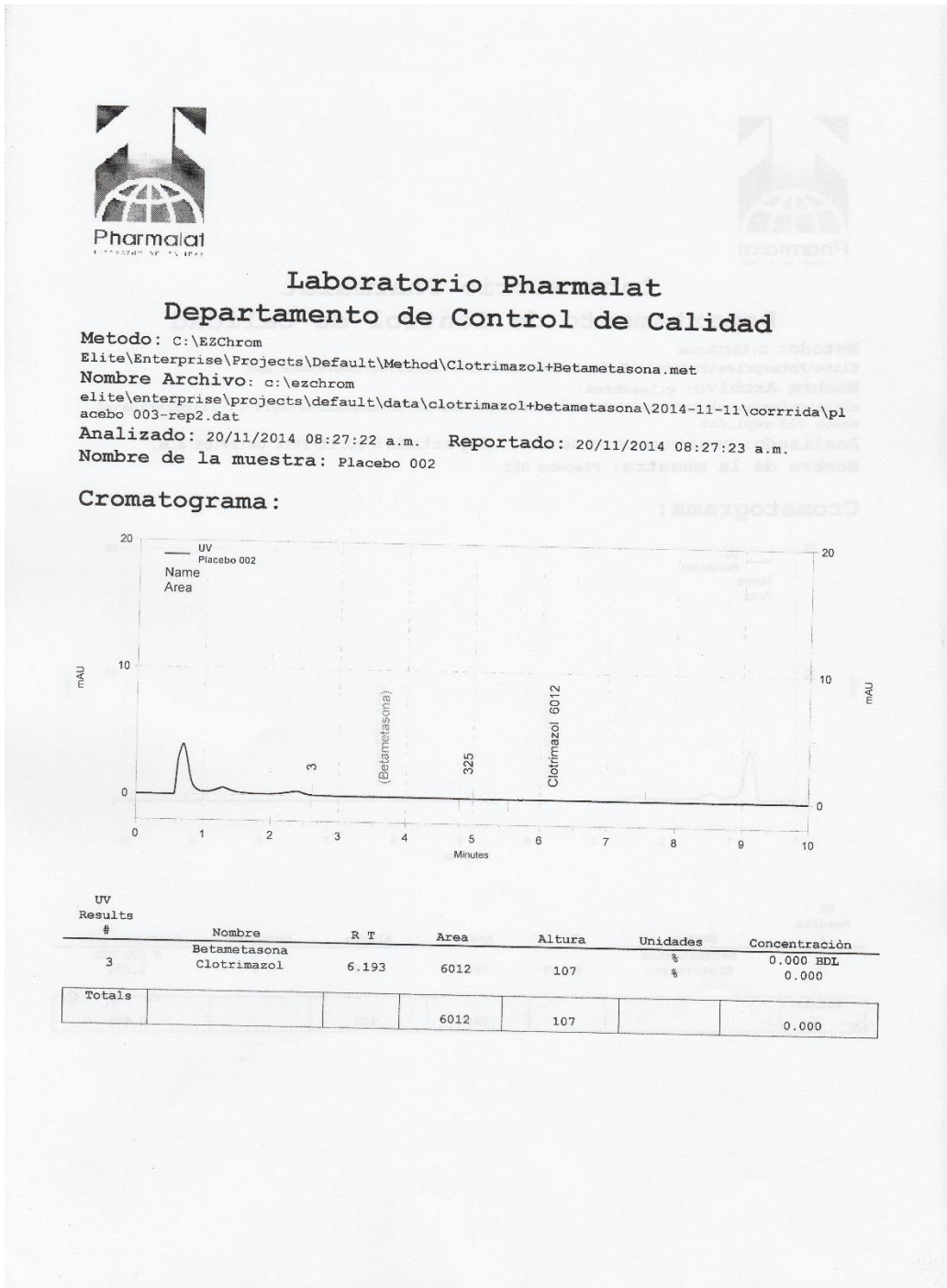


Anexo 28. Cromatograma de muestra placebo, corrida 1



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 29. Cromatograma de muestra placebo, corrida 2



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

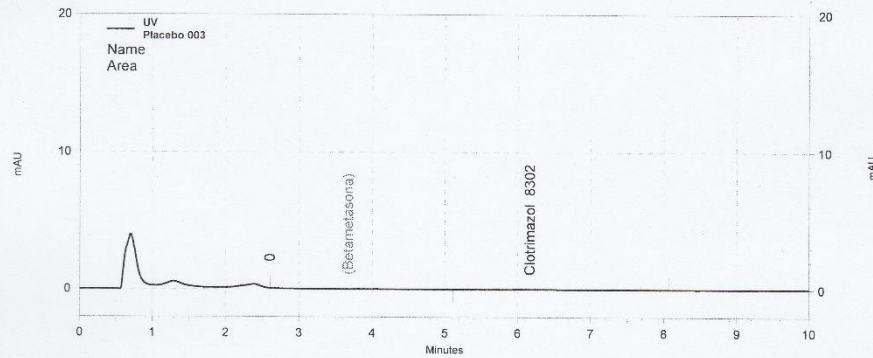
Anexo 30. Cromatograma de muestra placebo, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Metodo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: c:\ezchrom  
elite\enterprise\projects\default\data\clotrimazol+betametasona\2014-11-11\corrida\pl  
acebo 003-rep3.dat  
Analizado: 20/11/2014 08:27:30 a.m. Reportado: 20/11/2014 08:27:30 a.m.  
Nombre de la muestra: Placebo 003

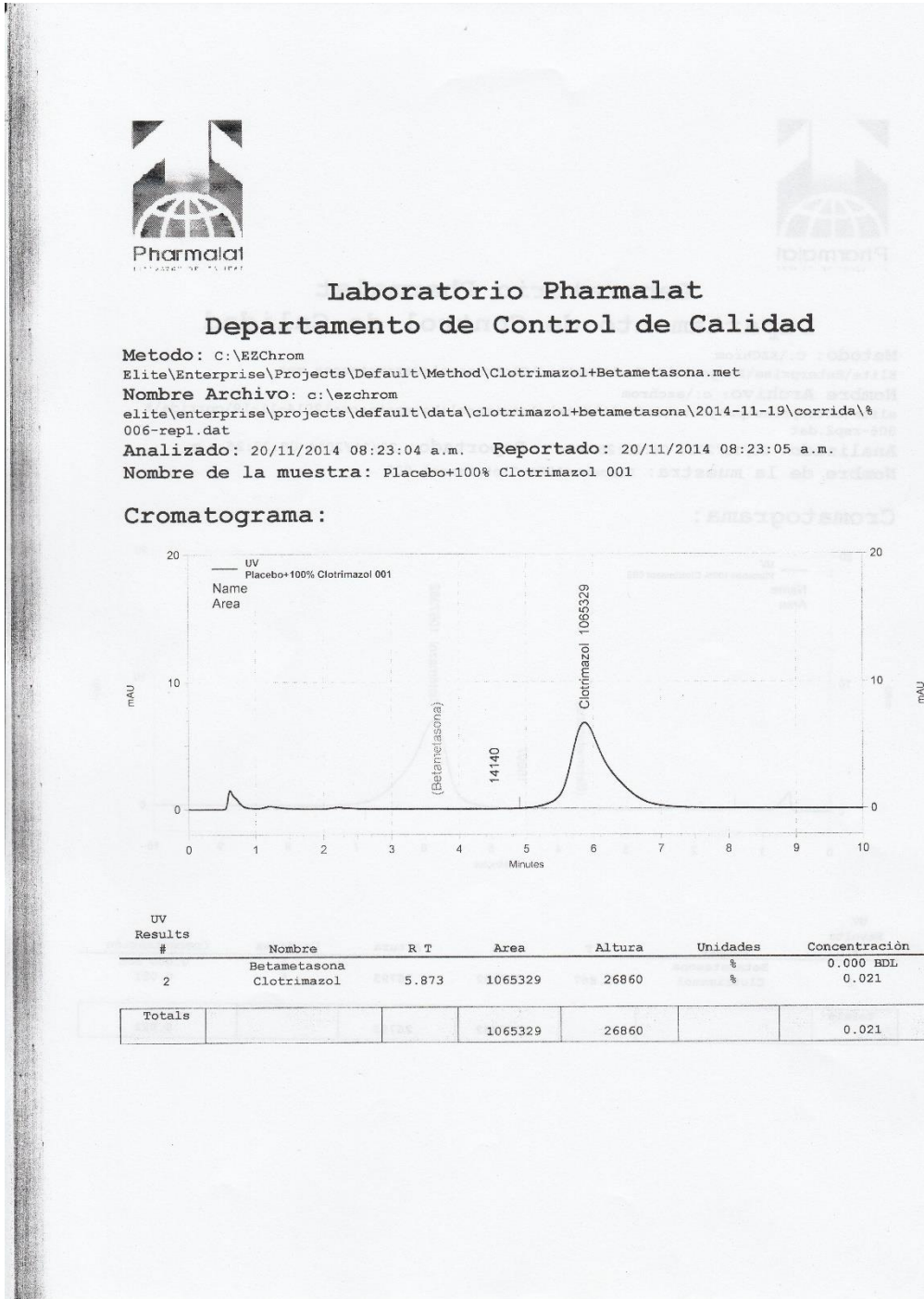
Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
2	Betametasona	6.167	8302	114	%	0.000 BDL
	Clotrimazol				%	0.000
Totals			8302	114		0.000

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

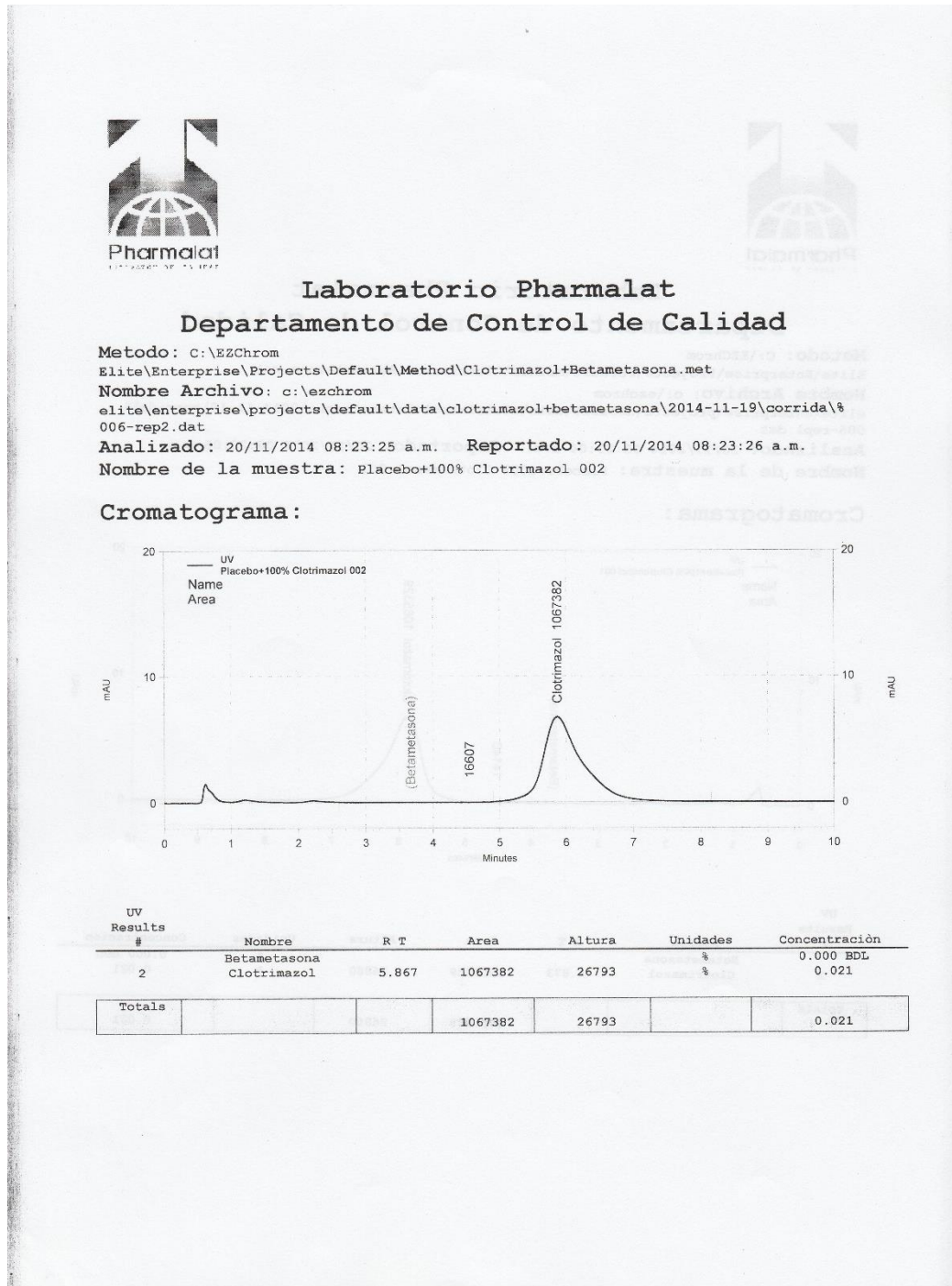
Anexo 31. Cromatograma de placebo + 100 % clotrimazol, corrida 1



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

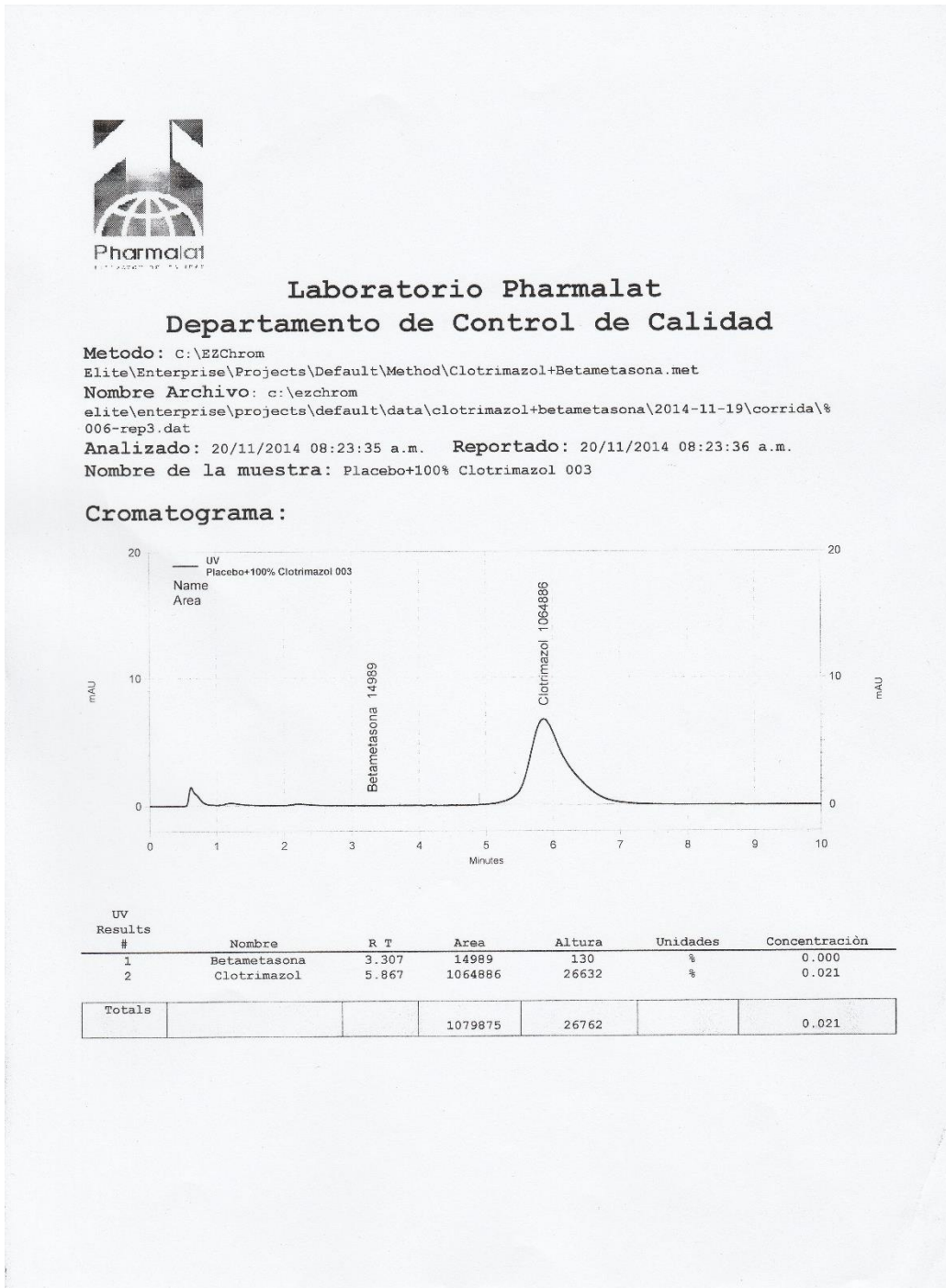


Anexo 32. Cromatograma de placebo + 100 % clotrimazol, corrida 2



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

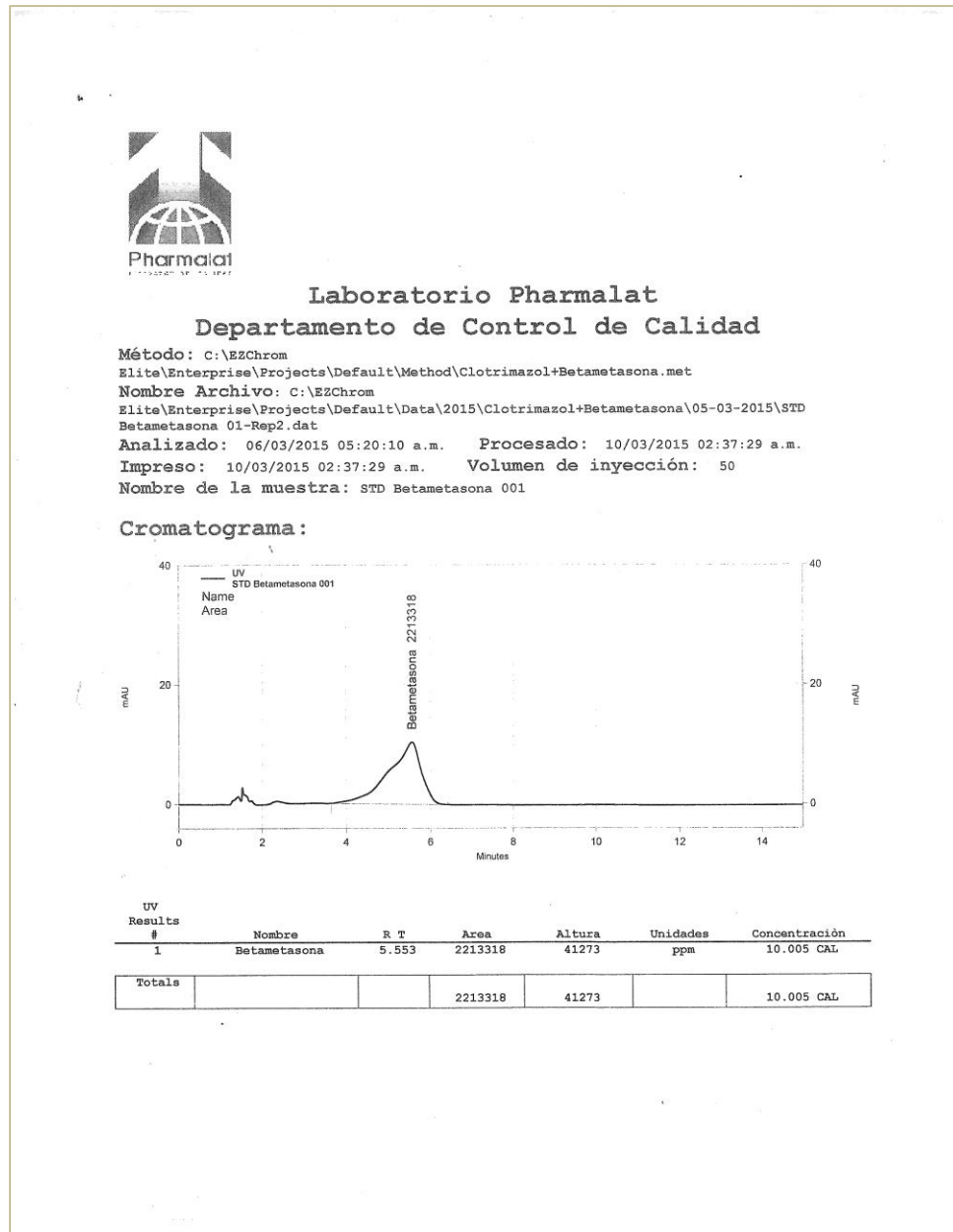
Anexo 33. Cromatograma de placebo + 100 % clotrimazol, corrida 3



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

3. Validación del procedimiento estándar de limpieza en el área

Anexo 34. Cromatograma de muestra estándar, corrida 1



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

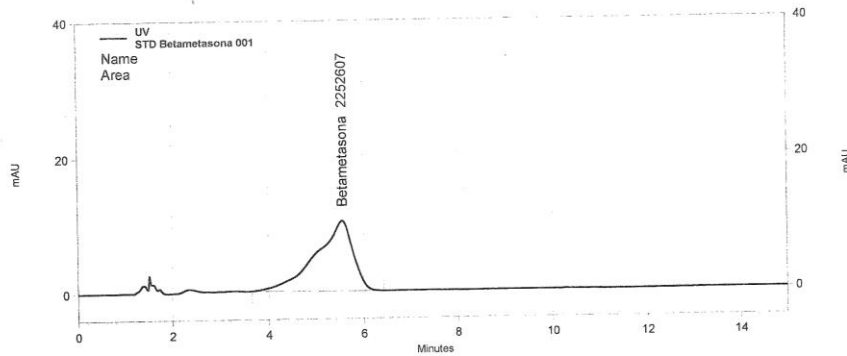
Anexo 35. Cromatograma de muestra estándar, corrida 2



**Laboratorio Pharmalat**  
**Departamento de Control de Calidad**

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\STD  
 Betametasona 01-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 05:36:24 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:38:12 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:38:12 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: STD Betametasona 001

**Cromatograma:**



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	5.553	2252607	41373	ppm	10.005 CAL
<b>Totals</b>			2252607	41373		10.005 CAL

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



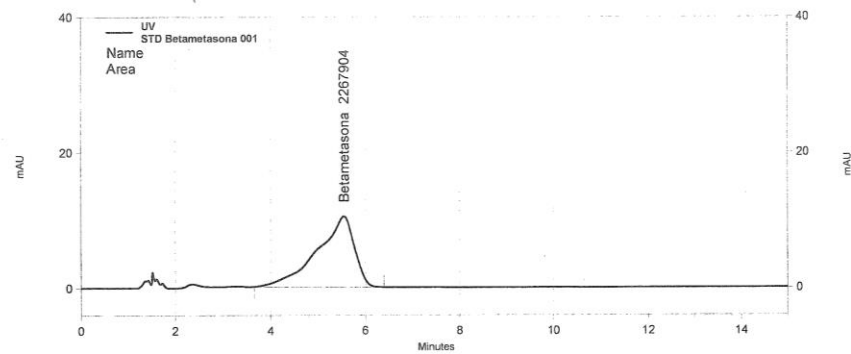
Anexo 36. Cromatograma de muestra estándar, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\STD  
 Betametasona 01-Rep4.dat  
 Analizado: 06/03/2015 05:52:38 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:38:26 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:38:26 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: STD Betametasona 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	5.553	2267904	41442	ppm	10.005 CAL
<b>Totals</b>			2267904	41442		10.005 CAL

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

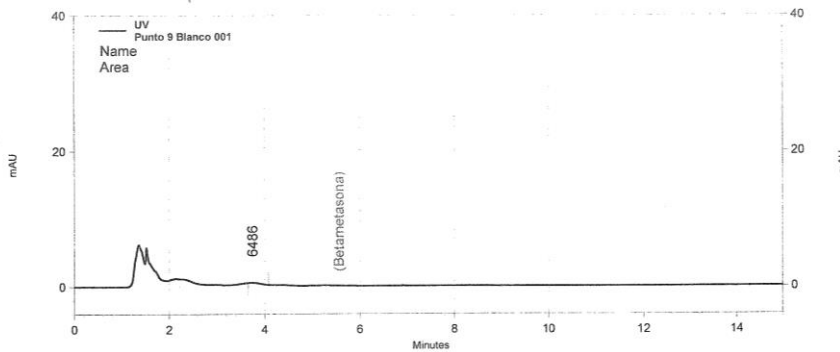
Anexo 37. Cromatograma del punto 9 blanco, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 9 Blanco 002-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 06:08:48 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:38:41 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:38:41 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 9 Blanco 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

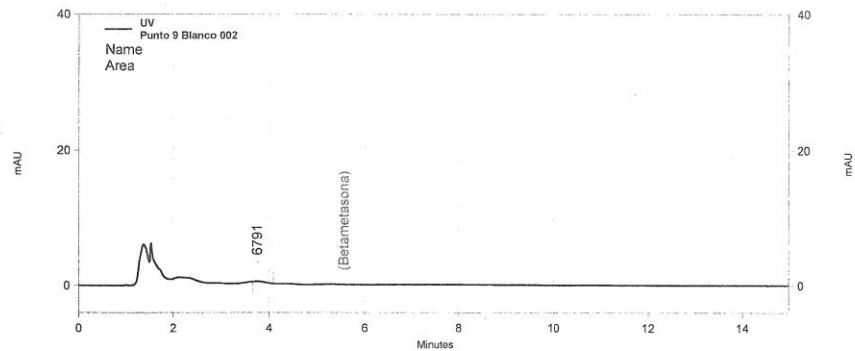
Anexo 38. Cromatograma del punto 9 blanco, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 9 Blanco 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 06:25:09 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:39:10 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:39:11 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 9 Blanco 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

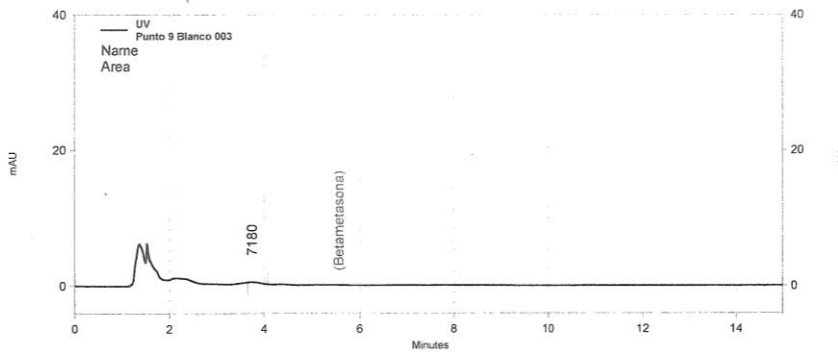
Anexo 39. Cromatograma del punto 9 blanco, corrida 3



**Laboratorio Pharmalat**  
**Departamento de Control de Calidad**

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 9 Blanco 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 06:41:24 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:39:18 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:39:18 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 9 Blanco 003

**Cromatograma:**



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

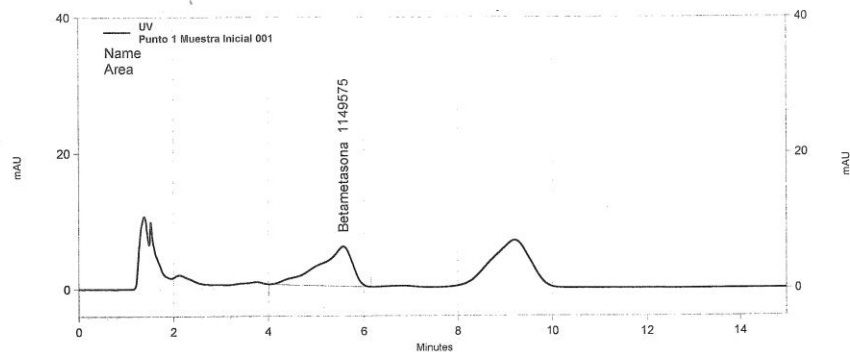
Anexo 40. Cromatograma del punto 1, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 1 Muestra Inicial 001-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 06:57:40 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:39:35 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:39:35 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 1 Muestra Inicial 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	5.567	1149575	23247	ppm	5.071
<b>Totals</b>			1149575	23247		5.071

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

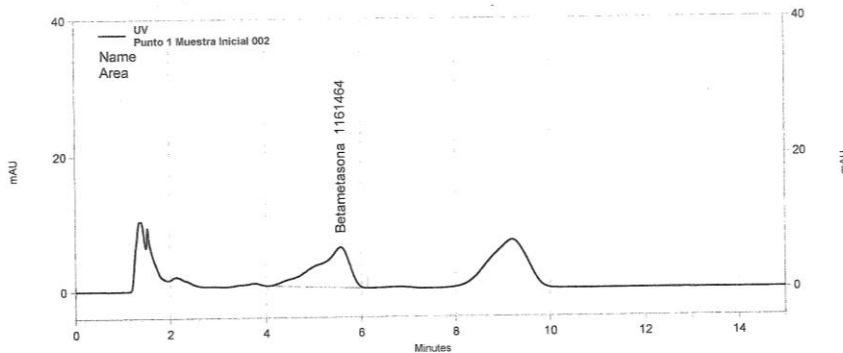
Anexo 41. Cromatograma del punto 1, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
1 Muestra Inicial 002-Rep2.dat  
Analizado: 06/03/2015 07:13:58 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:39:52 a.m.  
Impreso: 10/03/2015 02:39:53 a.m. Volumen de inyección: 50  
Nombre de la muestra: Punto 1 Muestra Inicial 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	5.567	1161464	23830	ppm	5.124
Totals			1161464	23830		5.124

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

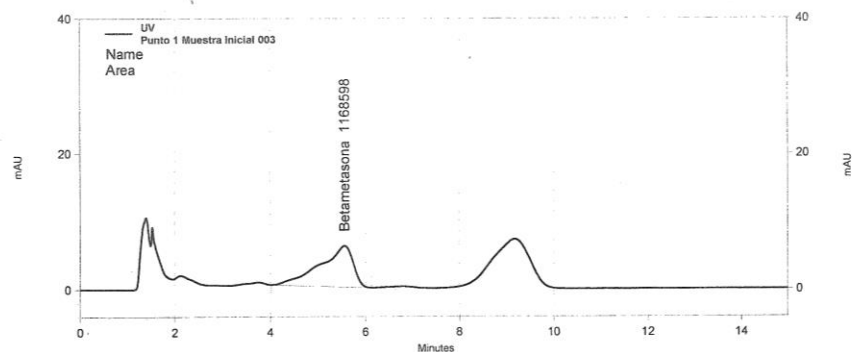
Anexo 42. Cromatograma del punto 1, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 1 Muestra Inicial 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 07:30:07 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:40:06 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:40:07 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 1 Muestra Inicial 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
1	Betametasona	5.553	1168598	24093	ppm	5.155
<b>Totals</b>			1168598	24093		5.155

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

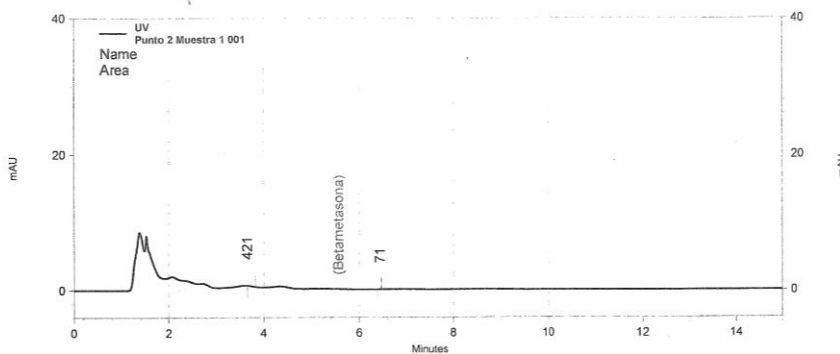
Anexo 43. **Cromatograma del punto 2, corrida 1**



**Laboratorio Pharmalat**  
**Departamento de Control de Calidad**

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 2 Muestra 1 001-Rep1.dat  
 Analizado: 06/03/2015 07:46:22 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:40:17 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:40:18 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 2 Muestra 1 001

**Cromatograma:**



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



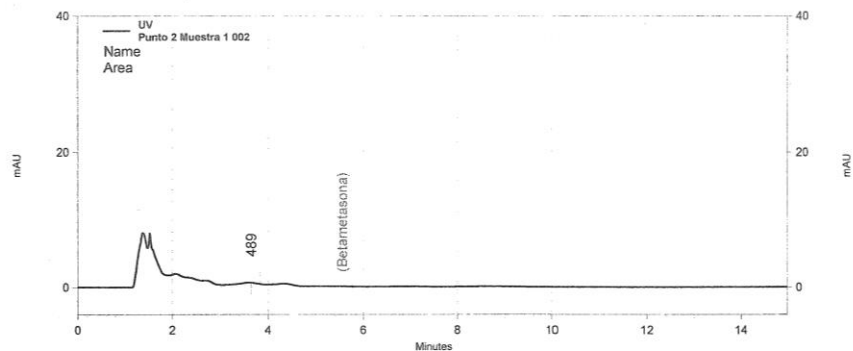
Anexo 44. Cromatograma del punto 2, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 2 Muestra 1 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 08:02:35 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:40:40 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:40:40 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 2 Muestra 1 002

Cromatograma :



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

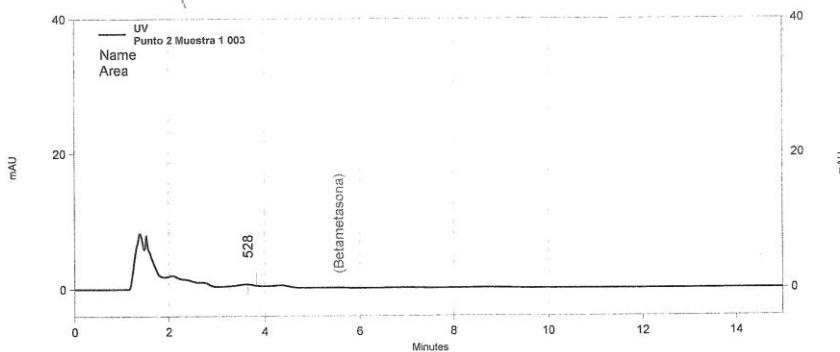
Anexo 45. Cromatograma del punto 2, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 2 Muestra 1 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 08:18:56 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:40:49 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:40:50 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 2 Muestra 1 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

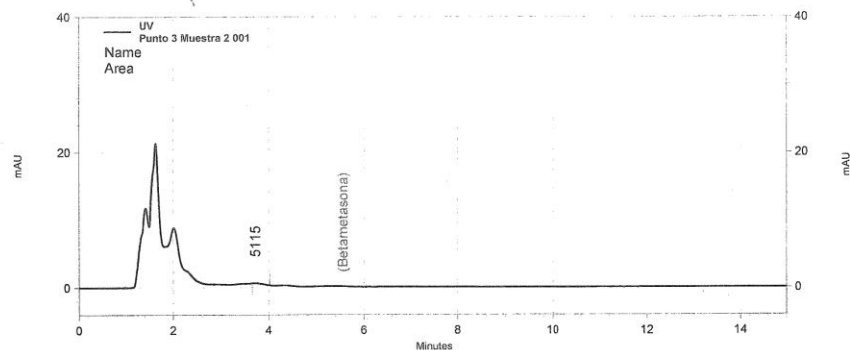
Anexo 46. Cromatograma del punto 3, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 3 Muestra 2 001-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 08:35:16 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:41:07 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:41:07 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 3 Muestra 2 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

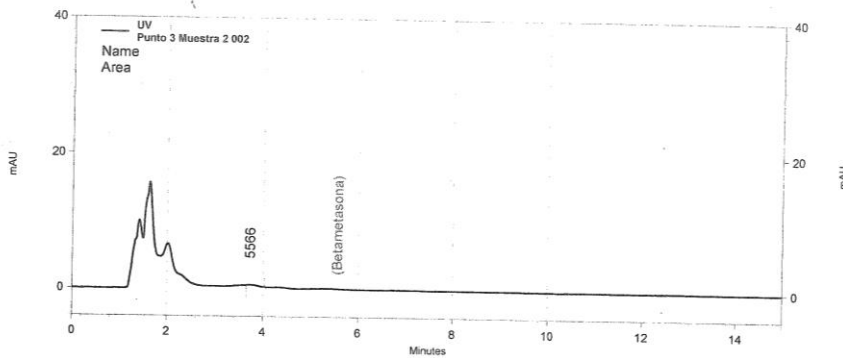
Anexo 47. Cromatograma del punto 3, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 3 Muestra 2 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 08:51:24 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:41:28 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:41:29 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 3 Muestra 2 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

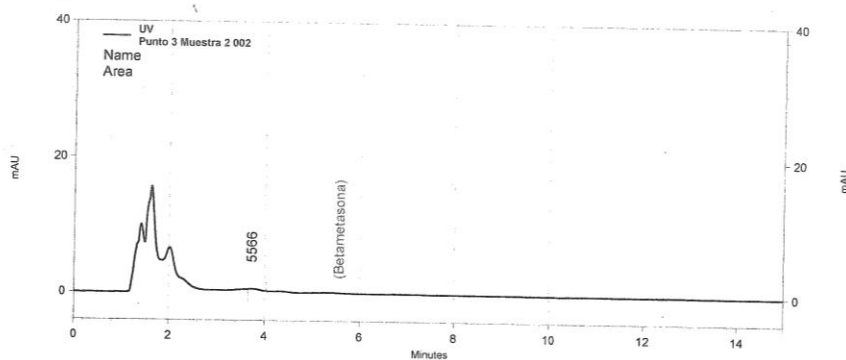
Anexo 48. Cromatograma del punto 3, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 3 Muestra 2 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 08:51:24 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:41:28 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:41:29 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 3 Muestra 2 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

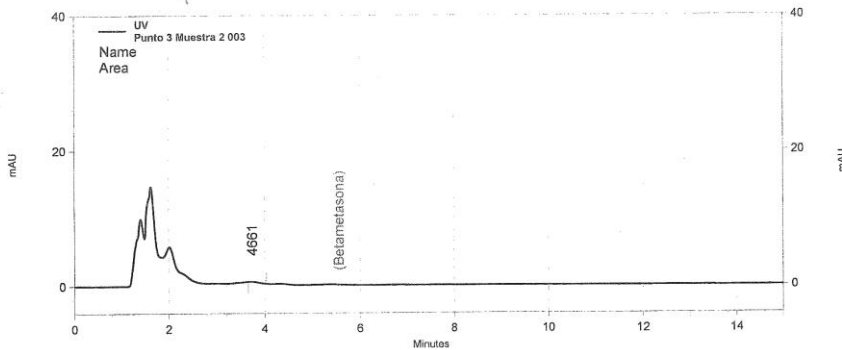
Anexo 49. Cromatograma del punto 3, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 3 Muestra 2 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 09:07:43 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:41:40 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:41:41 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 3 Muestra 2 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

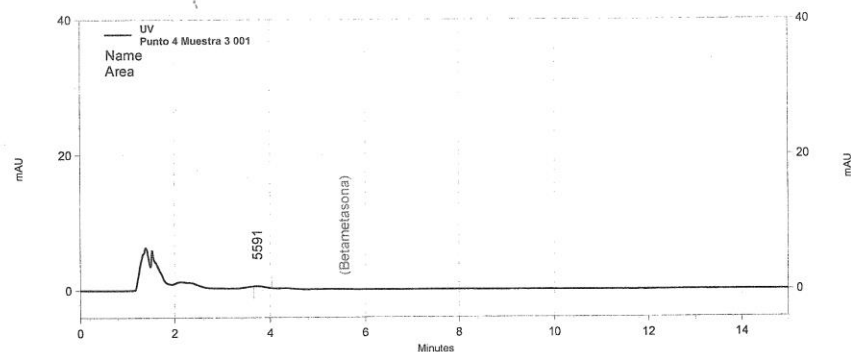
Anexo 50. Cromatograma del punto 4, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 4 Muestra 3 001-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 09:24:01 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:41:52 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:41:52 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 4 Muestra 3 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

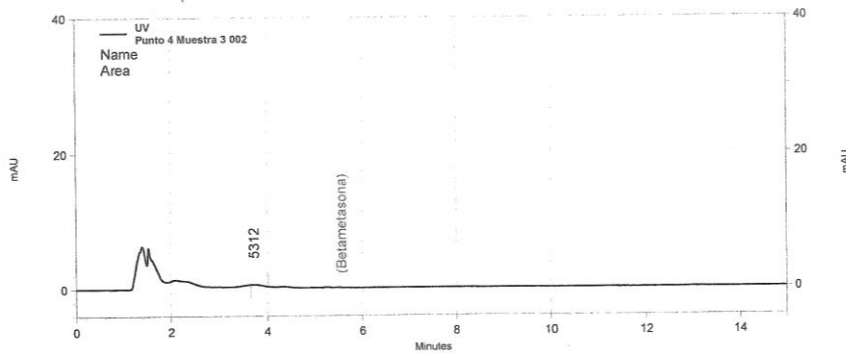
Anexo 51. Cromatograma del punto 4, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
4 Muestra 3 002-Rep2.dat  
Analizado: 06/03/2015 09:40:07 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:42:11 a.m.  
Impreso: 10/03/2015 02:42:12 a.m. Volumen de inyección: 50  
Nombre de la muestra: Punto 4 Muestra 3 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



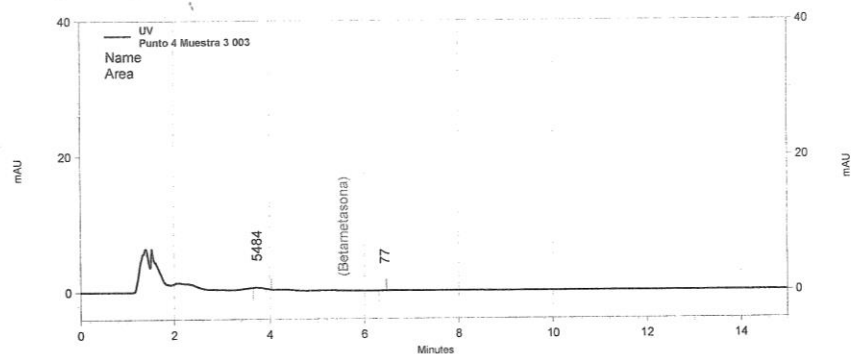
Anexo 52. Cromatograma del punto 4, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 4 Muestra 3 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 09:56:25 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:42:23 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:42:23 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 4 Muestra 3 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

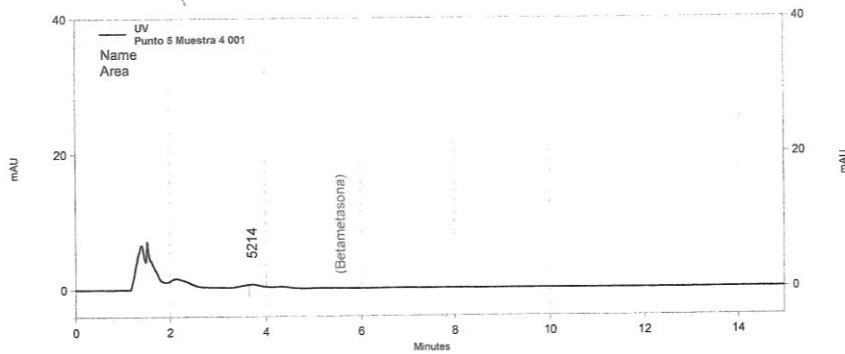
Anexo 53. Cromatograma del punto 5, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 5 Muestra 4 001-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 10:12:39 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:42:34 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:42:34 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 5 Muestra 4 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

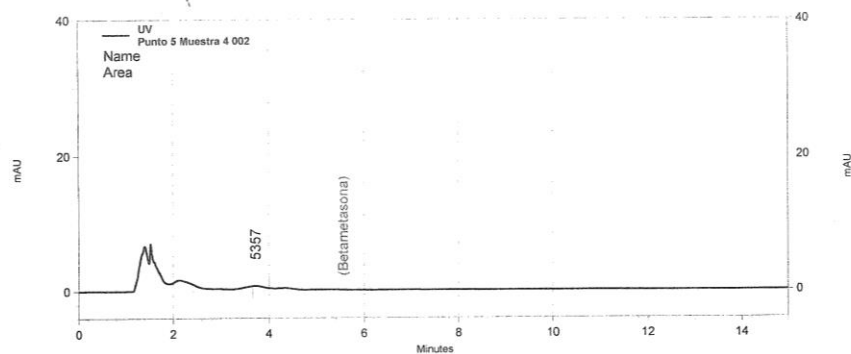
Anexo 54. Cromatograma del punto 5, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 5 Muestra 4 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 10:28:53 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:42:51 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:42:51 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 5 Muestra 4 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

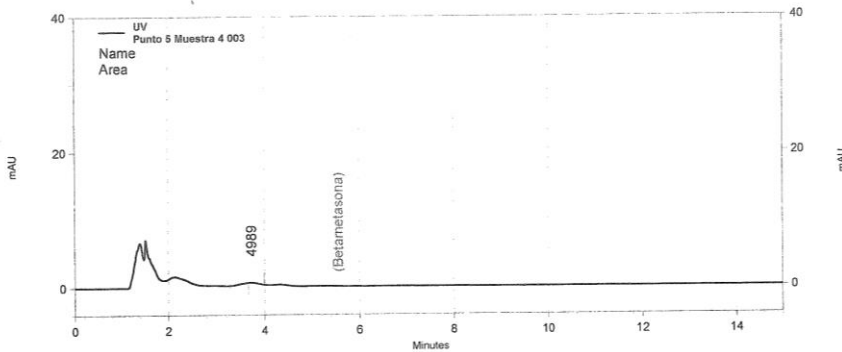
Anexo 55. Cromatograma del punto 5, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 5 Muestra 4 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 10:45:08 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:43:00 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:43:00 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 5 Muestra 4 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

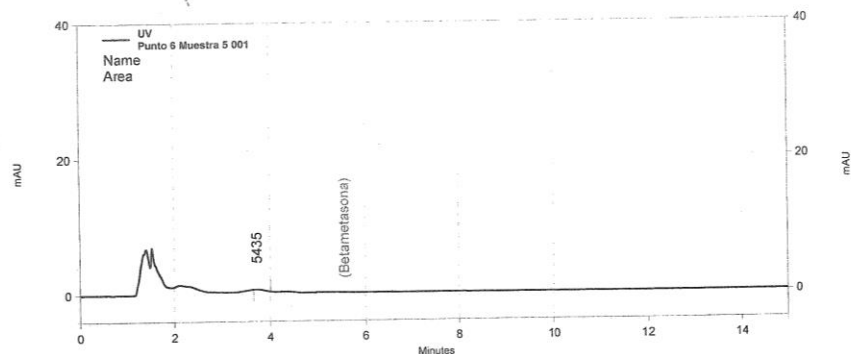
Anexo 56. Cromatograma del punto 6, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 6 Muestra 5 001-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 11:01:17 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:43:11 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:43:11 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 6 Muestra 5 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

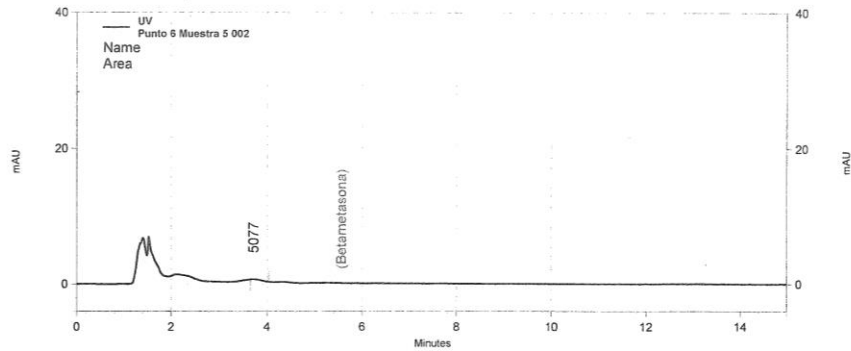
Anexo 57. Cromatograma del punto 6, corrida 2



**Laboratorio Pharmalat**  
**Departamento de Control de Calidad**

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 6 Muestra 5 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 11:17:32 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:43:28 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:43:28 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 6 Muestra 5 002

**Cromatograma:**



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

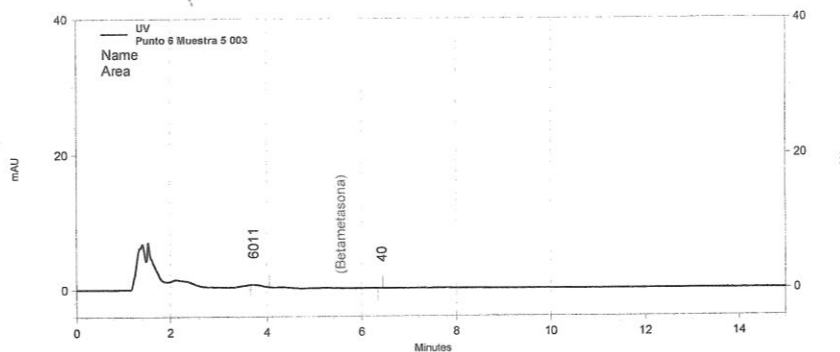
Anexo 58. Cromatograma del punto 6, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 6 Muestra 5 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 11:33:44 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:43:39 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:43:39 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 6 Muestra 5 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

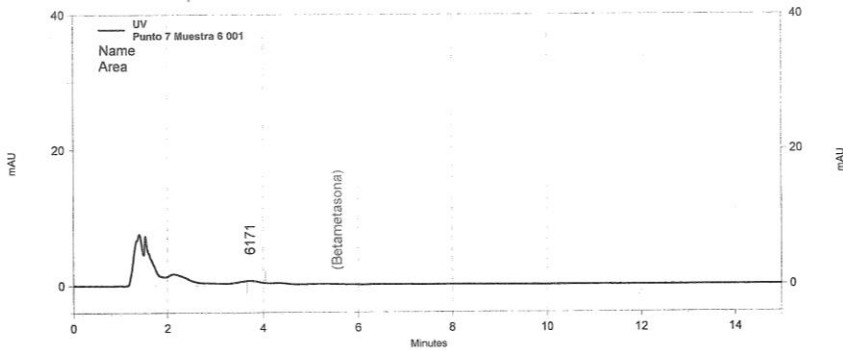
Anexo 59. Cromatograma del punto 7, corrida 1



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 7 Muestra 6 001-Repl.dat  
 Analizado: 06/03/2015 11:49:56 a.m. Procesado: 10/03/2015 02:43:50 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:43:50 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 7 Muestra 6 001

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.



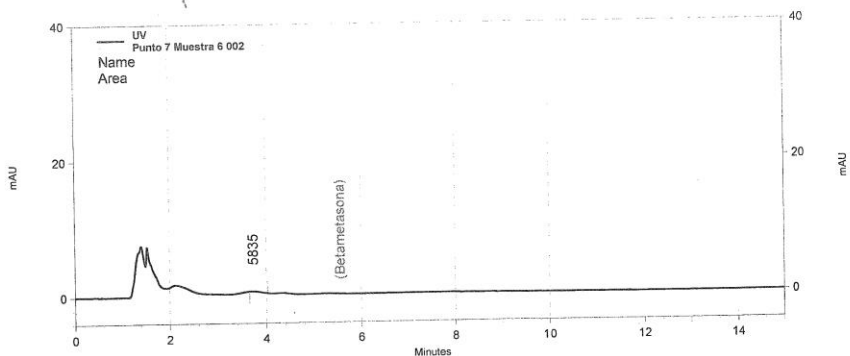
Anexo 60. Cromatograma del punto 7, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
Nombre Archivo: C:\EZChrom  
Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
7 Muestra 6 002-Rep2.dat  
Analizado: 06/03/2015 12:06:10 p.m. Procesado: 10/03/2015 02:44:08 a.m.  
Impreso: 10/03/2015 02:44:08 a.m. Volumen de inyección: 50  
Nombre de la muestra: Punto 7 Muestra 6 002

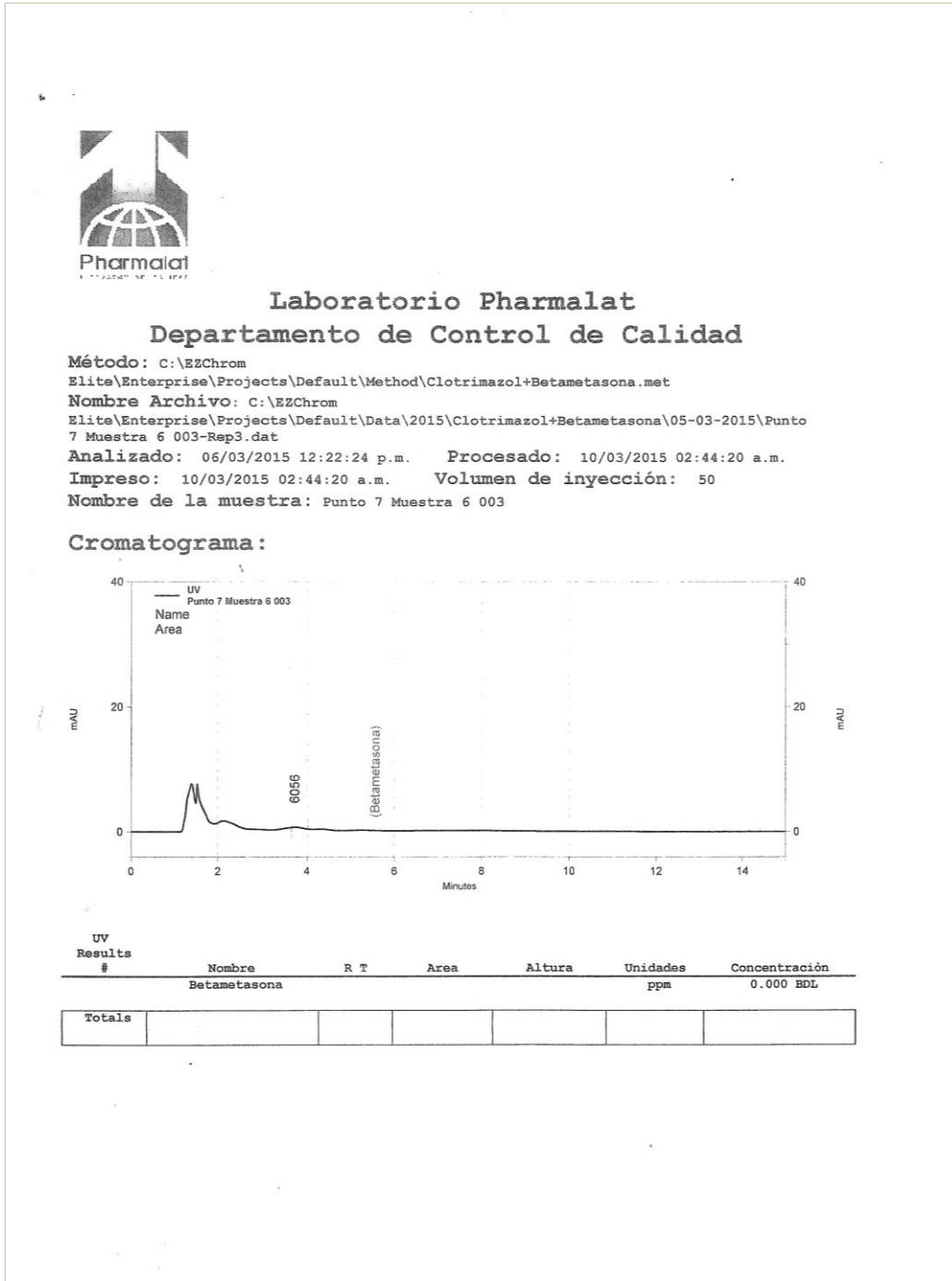
Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

Anexo 61. Cromatograma del punto 7, corrida 3



Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

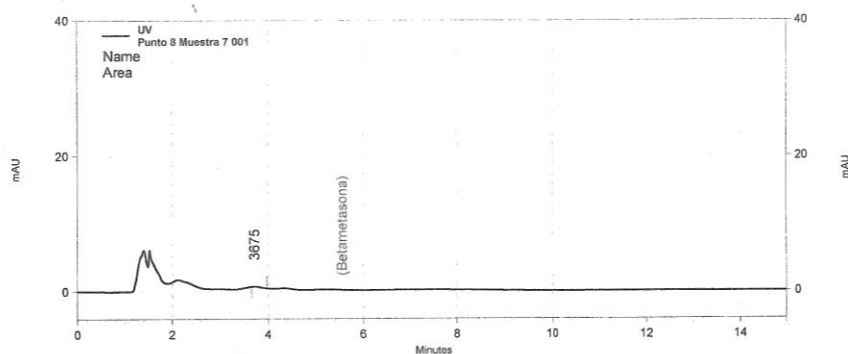
## Anexo 62. Cromatograma del punto 8, corrida 1



### Laboratorio Pharmalat Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 8 Muestra 7 001-Rep1.dat  
 Analizado: 06/03/2015 12:38:36 p.m. Procesado: 10/03/2015 02:44:36 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:44:36 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 8 Muestra 7 001

#### Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

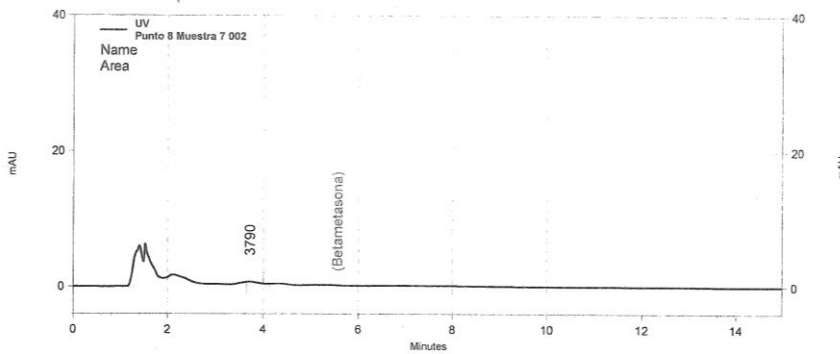
Anexo 63. Cromatograma del punto 8, corrida 2



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 8 Muestra 7 002-Rep2.dat  
 Analizado: 06/03/2015 12:54:51 p.m. Procesado: 10/03/2015 02:44:55 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:44:56 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 8 Muestra 7 002

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
Totals						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

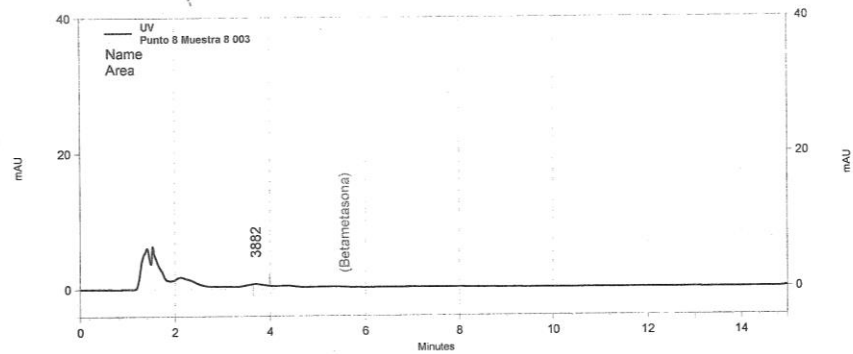
Anexo 64. Cromatograma del punto 8, corrida 3



Laboratorio Pharmalat  
Departamento de Control de Calidad

Método: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Method\Clotrimazol+Betametasona.met  
 Nombre Archivo: C:\EZChrom  
 Elite\Enterprise\Projects\Default\Data\2015\Clotrimazol+Betametasona\05-03-2015\Punto  
 8 Muestra 7 003-Rep3.dat  
 Analizado: 06/03/2015 01:11:06 p.m. Procesado: 10/03/2015 02:45:04 a.m.  
 Impreso: 10/03/2015 02:45:04 a.m. Volumen de inyección: 50  
 Nombre de la muestra: Punto 8 Muestra 8 003

Cromatograma:



UV Results #	Nombre	R T	Area	Altura	Unidades	Concentración
	Betametasona				ppm	0.000 BDL
<b>Totals</b>						

Fuente: Departamento de Control de Calidad, Pharmalat, S. A.

