

Validación del proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos de un laboratorio farmacéutico

Filling process validation aseptic ophthalmic preparations of a pharmaceutical laboratory

Edgar Leví Plasencia Cotrina¹, Dahalia M. Portilla Lecca¹,
Ericson F. Castillo Saavedra²

Recibido: 26 de agosto de 2015

Aceptado: 02 de setiembre de 2015

Resumen

Se validó el proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos de un laboratorio farmacéutico nacional a través de las pruebas de esterilidad, control fisicoquímico y control del área estéril a lo largo del proceso, para lo cual se estableció un diagrama de operaciones con los puntos críticos a controlar en 3 etapas principales: etapa previa del proceso de manufactura, etapa de fabricación y etapa de envasado. En el análisis de la etapa previa al proceso de manufactura se determinó la conformidad mediante un control del medio de cultivo, del agua purificada con características fisicoquímicas de pH entre 6,61 a 6,64, conductividad de 0,82 a 0,86, ausencia de sustancia oxidables y de microorganismos. Por otro lado, en la etapa de fabricación se determinó la conformidad mediante un análisis del producto a granel de características fisicoquímicas de

peso específico de 1,01404, pH de primeras unidades envasadas de 7,2322 y microorganismos por debajo de 10 UFC/mL, control ambiental, de superficies y del personal del área que estuvo dentro de las especificaciones. Finalmente, en la etapa de envasado se determinó la conformidad mediante un análisis del producto envasado de características fisicoquímicas en 21 puntos de muestreo de peso específico de 1,01345, pH de 7,22952, envases herméticos y esterilidad de 5000 unidades envasadas, un control en válvulas críticas con resultados de esterilidad, un control ambiental, de superficies como del personal del área que se determinó dentro de especificación.

Palabras clave: Llenado aséptico, esterilidad, control fisicoquímico, control microbiológico.

Abstract

This research aimed to validate the aseptic filling process of national laboratory ophthalmic preparations. Testing sterility through of the physicochemical monitoring and the control sterile area along the process was performed, for which it was realized a diagram of operations with critical control points in three main stages, the previous stage of the manufacturing process, the manufacturing stage, the filling stage were established.

In the analysis of the previous step to the manufacturing process was determined the compliance by control of the culture medium, the purified water with physicochemical characteristics of pH between 6.64 to 6.61, conductivity from 0.82 to 0.86; absence of oxidizable substances and microorganisms; besides, in the step of manufacturing the conformity was determined by an analysis of the bulk of physicochemical characteristics

¹ Químico Farmacéutico. Laboratorio VITALINE S. A. C.

² Doctor en Ciencias Biomédicas. Químico Farmacéutico. Docente de la Facultad de Farmacia y Bioquímica. Universidad Nacional de Trujillo. ericson_fcs@hotmail.com

of specific weight of 1.01404, of pH 7.2322, and microorganisms below 10 CFU/mL, environmental control, surface and personnel of the area was within specification; finally, in the filling step compliance was determined by analysis of physicochemical characteristics in 21 sampling points specific weight of 1.01345, pH of 7,22952, hermetically sealed bottles and bottles filled sterility 5000, a control valves critical with results of sterility, environmental control, surface and personnel area which was determined within specification.

Keywords: Aseptic filling, sterility, physicochemical control, microbiological control.

INTRODUCCIÓN

La Organización Mundial de la Salud (OMS), Food and Drug Administration (FDA), International Organization for Standardization (ISO) y la Conferencia Internacional de Armonización (ICH) proveen requerimientos técnicos para el registro de fármacos para el uso humano, y además de procesos críticos para la manufactura de medicamentos, los cuales deben ser validados y controlados en el tiempo. La significancia de validar los procesos de manufactura y sistemas de apoyo crítico es para la obtención de un producto final de calidad, seguro y eficaz para el paciente ^{1,2}.

La FDA define a la validación como el establecimiento de evidencia documentada que proporcione un alto grado de aseguramiento de que un proceso específico genere consistentemente un producto cumpliendo con sus especificaciones predeterminadas y atributos de calidad ³, por lo que, según cada compañía farmacéutica, se debe identificar qué trabajos de validación son necesarios para demostrar que se controlan los aspectos críticos de un proceso en particular ^{4,5}.

La validación de un proceso aséptico consiste en usar un medio de crecimiento microbiológico nutritivo en lugar del producto que se está manufacturando, simulando que el proceso se encuentre bajo control. Esto incluye la exposición del medio de crecimiento microbiológico a superficies de contacto del producto dentro del equipo, sistemas de cierre del envase, ambientes críticos, y manipulaciones del proceso para simular estrechamente la misma exposición a la cual el producto es sometido; el medio de cultivo muestreado es incubado para encontrar una posible contaminación microbiana en el proceso ^{3,6,7}.

El proceso llenado aséptico (PLLA) es un punto crítico a controlar en procesos donde las condiciones microbiológicas ambientales son controladas muy estrictamente (ambientes de condiciones de grados A y B, como también en menos

intensidad los de grado C) y del producto manufacturado presentan grado estéril, por ello se debe poseer un sistema de calidad que pueda controlar los diversos procesos críticos que afectan la integridad del producto ^{8,9,10,11,12}.

En este sentido, la reglamentación peruana, de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), representada con la Dirección General de Medicamentos, Insumos y Drogas (DIGEMID) exige que los laboratorios farmacéuticos que manufacturan productos estériles posean procesos de llenado aséptico validados; es por ello que los laboratorios cuentan con un programa anual de validaciones que demuestran el cumplimiento de estudios, para que la planta se encuentre apta para su funcionamiento ^{9,10}.

La calidad de un producto farmacéutico estéril debe asegurarse completamente, esto para cumplir con las exigencias de las autoridades sanitarias y sobre todo para brindar un producto confiable a la población. Es así, como la validación de procesos se hace indispensable para el aseguramiento de la calidad de los insumos farmacéuticos siendo uno de los soportes que aseguran la calidad del medicamento y con ello la salud del consumidor.

El presente estudio tuvo como finalidad validar el proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos mediante los siguientes controles: esterilidad, fisicoquímico y área estéril.

MATERIAL Y MÉTODOS

El material de trabajo que permitió validar el PLLA fueron las instalaciones de la línea estéril que posee el ambiente de fabricación y envasado.

El diseño de la metodología utilizada se describe en la figura 1, en el cual se utiliza un diagrama de operaciones de un proceso (DOP) simulado^{13, 14}, siendo necesario implementar para dar inicio a la manufactura de preparados oftálmicos (ocuviales) de 0,5mL. El DOP se realizó por triplicado, en tiempos diferentes y con operarios variados según personal disponible.

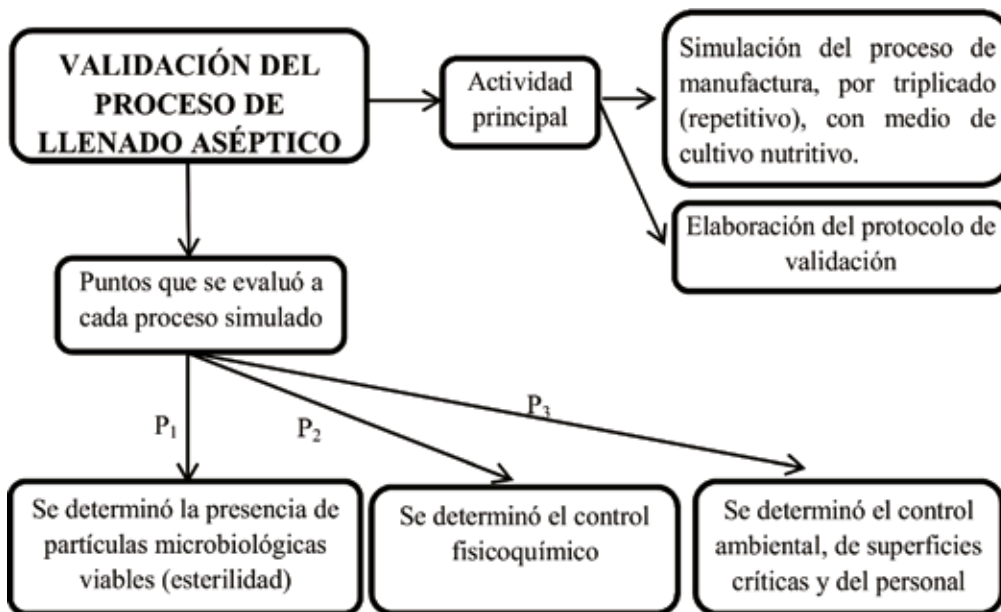


Fig. 1: Diseño de validación del PLLA

Fuente: Elaborado por el autor.

Leyenda: P: Indica los puntos que fueron evaluados en el estudio.

Los puntos críticos a controlar durante el PLLA se basan en la determinación de esterilidad, del control fisicoquímico y del control del área estéril (cuadro 1), de acuerdo a los parámetros establecidos por la United State Pharmacopeia (USP) en su versión 38.

El desarrollo estadístico consistió en recopilar toda la información obtenida en las distintas pruebas, para determinar la validez y significancia de los resultados en los ensayos, y se comparó con las especificaciones planteadas^{13, 14}.

Cuadro 1: Puntos críticos a controlar en PLLA.

Etapa del proceso	Puntos críticos a controlar
Etapa previa al proceso de manufactura	Control del medio de cultivo: – Promoción de crecimiento
	Control del agua purificada: – Aspecto – pH – Conductividad – Microorganismos
Etapa de fabricación	Control del producto a granel – Aspecto – Peso específico – pH (primeras unidades envasadas) – Biocarga
	Control del área: – Control ambiental (por sedimentación) – Control de superficies (por placa de contacto) – Control del personal: placa de contacto, ingreso y salida del área
Etapa de envasado	Control del producto envasado: Puntos de muestreo fisicoquímico (21 puntos): – Aspecto – Peso específico – pH – Hermeticidad Puntos de muestreo microbiológico (5000 unidades): – Esterilidad
	Control de esterilidad de producto residual en válvulas críticas: – Válvula de salida de producto del tanque de fabricación. – Válvulas de ingreso de producto a máquina BFS 624. – Válvula de ingreso de producto al buffer tank de BFS 624. – Válvula de salida de producto del buffer tank de BFS 624.
	Control del área: – Control ambiental (por sedimentación) – Control de superficies (por placa de contacto) – Control del personal: placa de contacto, ingreso y salida del área.

Fuente: Elaborado por el autor.

RESULTADOS

1. ETAPA PREVIA AL PROCESO DE MANUFACTURA

Tabla 1: Determinación de promoción de crecimiento del medio de cultivo TSB del PLLA frente a especificación de ente regulador.

Microorganismo	Especificación (según USP 38)	Resultado por N° de envase
<i>Candida albicans</i> (Lote: 443-215)	Bueno o muy bueno	Muy bueno
<i>Bacillus subtilis</i> (Lote: 486-174)	Bueno o muy bueno	Muy bueno
<i>Aspergillus brasiliensis</i> (Lote: 392-139)	Bueno o muy bueno	Muy bueno
Dictamen		Conforme

Tabla 2: Determinación del control del agua purificada del PLLA frente a especificación reguladora.

Parámetro	Especificación (según USP 38)	Resultados de agua purificada
Aspecto	Líquido transparente incolore e inodoro	Líquido transparente incolore e inodoro
pH	5,0 a 7,0	6,64 (IC: 6,5819 - 6,6892)
Conductividad	Máximo 1,3 μ S/cm	0,82 (LS: 0,8652)
Sustancias oxidables	Ausente	Ausente
Bacterias mesófilas	No > 100 UFC/mL	0 UFC/mL
Gérmenes patógenos y hongos	Ausente	Ausente
Dictamen		Conforme

Nota:

LS: Límite superior al 95%

IC: Intervalo de confianza a 95%

2. ETAPA DE FABRICACIÓN

Tabla 3: Determinación del control de producto a granel en la etapa de fabricación del PLLA frente a especificación reguladora.

Parámetro	Especificación	Resultados de fabricación
		Producto a granel
Aspecto	Líquido marrón amarillento transparente	Líquido amarillo transparente
Peso específico	1,010 – 1,020	1,01404 IC: 1,01377 – 1,01432
pH verificación	7,1 – 7,5	7,3844 IC: 7,3486 – 7,4203
pH primeras unidades envasadas	7,1 – 7,5	7,2322 IC: 7,2062 – 7,2582
Biocarga Bacterias mesófilos	<500 UFC/mL	< 10 UFC/mL
Biocarga Hongos y levaduras	<50 UFC/MI	< 10 UFC/mL
Dictamen		Conforme

Nota: IC: Intervalo de confianza a 95%

Tabla 4: Determinación del control ambiental de bacterias mesófilas, hongos y levaduras en la etapa de fabricación del PLLA frente a especificación reguladora.

Ambiente	Punto de muestreo	Mesófilos Aerobios (OMS reporte 45) Clase C: ≤5 UFC/placa		Hongos y Levaduras (OMS reporte 45) Clase C: ≤1 UFC/placa		Dictamen
		Lote010013		Lote010013		
		24 H	48 H	96 H	120 H	
Fabricación	1	<1	1	<1	1	Conforme
	2	<1	<1	<1	1	Conforme
	3	<1	<1	<1	<1	Conforme
	4	<1	<1	<1	<1	Conforme
	5	<1	<1	<1	<1	Conforme
	6	<1	<1	<1	<1	Conforme
	7	<1	<1	<1	<1	Conforme

Tabla 5: Determinación del control de superficies de bacterias mesófilas, hongos y levaduras en la etapa de fabricación del PLLA frente a especificación reguladora.

Ambiente	Punto de Muestreo	Mesófilos Aerobios (USP 38) Clase C: ≤5 UFC/placa		Hongos y Levaduras (USP 38) Clase C: ≤2 UFC/Placa		Dictamen
		Lote010013		Lote010013		
		24 H	48 H	96 H	120 H	
Fabricación	1	< 1	1	< 1	< 1	Conforme
	2	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	3	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	4	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	5	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	6	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme

3. ETAPA DE ENVASADO

Tabla 6: Determinación del control de producto envasado del PLLA frente a especificación reguladora.

Parámetro	Especificación (según USP 38)	Resultados
Aspecto	Líquido marrón amarillento transparente	Líquido transparente incoloro e inodoro
Peso específico	1,010 – 1,020	1,01345 IC: 1.01335 – 1.01354
pH	7,1 – 7,5	7,22952 IC: 7,22743 – 7,23162
Hermeticidad	Envase Hermético	Envases Herméticos
Esterilidad Bacterias mesófilas	Estéril	Estéril
Esterilidad Hongos y levaduras	Estéril	Estéril
Dictamen		Conforme

Nota: IC: Intervalo de confianza a 95%

Tabla 7: Determinación del control de esterilidad del producto residual en válvulas críticas del PLLA frente a especificación reguladora.

Válvulas	Bacterias mesófilas (USP 38 - Estéril)	Hongos y levaduras (USP 38 - Estéril)	Dictamen
Salida de producto del tanque 2	Estéril	Estéril	Conforme
Ingreso de producto a máquina BFS 624	Estéril	Estéril	Conforme
Ingreso de producto al buffer tank de BFS 624	Estéril	Estéril	Conforme
Salida de producto del buffer tank de BFS 624	Estéril	Estéril	Conforme

Tabla 8: Determinación del control ambiental de bacterias mesófilas, hongos y levaduras en la etapa de envasado del PLLA frente a especificación reguladora.

Ambiente	Punto de Muestreo	Mesófilos Aerobios (OMS reporte 45) Clase C: = 5 UFC/Placa		Hongos y Levaduras (OMS reporte 45) Clase C: = 1 UFC/Placa		Dictamen
		Lote 010013		Lote 010013		
		24 H	48 H	96 H	120 H	
Envasado	1	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	2	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	3	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	4	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	5	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	6	1	1	< 1	< 1	Conforme
	7	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme

Tabla 9: Determinación del control de superficies de bacterias mesófilas, hongos y levaduras en la etapa de envasado del PLLA frente a especificación reguladora.

Ambiente	Punto de Muestreo	Mesófilos Aerobios (USP 38) Clase C: = 5 UFC/Placa		Hongos y Levaduras (USP 38) Clase C: = 2 UFC/Placa		Dictamen
		Lote 010013		Lote 010013		
		24 H	48 H	96 H	120 H	
Envasado	1	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	2	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme
	3	< 1	< 1	< 1	< 1	Conforme

DISCUSIÓN

En la tabla 1 se evaluó la promoción de crecimiento en los medios de cultivo TSB, obteniendo el calificativo de muy bueno, con un crecimiento rápido entre las 24 y 48 horas, con abundante turbidez de cepas como *Bacillus subtilis*, *Aspergillus brasiliensis* e inclusive levaduras como *Candida albicans*, asimismo, este medio TSB nos permite la recuperación eficaz de microorganismos gracias a su baja selectividad, debido a que no posee inhibidores de ninguna clase y su formulación incluye sustratos de fácil asimilación metabólica para los microorganismos. En este sentido, se evidencia que a nivel de industrias farmacéuticas, el medio TSB es el más adecuado en PLLA, ya que permite un crecimiento eficiente de los microorganismos aerobios mesófilos (bacterias, levaduras y hongos) que son de difícil crecimiento en medios no selectivos, además es muy eficaz para la detección visual de crecimiento por turbidez gracias a la claridad que posee ^{8, 13, 14}.

En la tabla 2 se detalla los controles fisicoquímicos y microbiológicos determinados en los productos en estudio cuyos valores promedio están dentro de especificaciones emitidas según USP 38, International Society for Pharmaceutical Engineering (ISPE) – Water and Steam Systems y la validación del proceso de generación de agua purificada basada en OMS reporte 39. Los puntos muestreados del proceso de generación de agua purificada son conformes, tienen importancia en la manufactura de preparados farmacéuticos, utilizado en el PLLA simulado y que permite la disolución uniforme del medio de cultivo TSB en la etapa de fabricación, la limpieza del tanque y de las líneas estériles de conducción del producto ^{15, 16, 17, 18}. En la tabla 3 se observa el control de producto a granel, se comparan las especificaciones emitidas en el certificado del medio de cultivo por el proveedor Merck KGaA respecto a los valores promedio obtenidos en la etapa de fabricación, obteniéndose un medio con características organolépticas aceptables, un peso específico de 1,01404 con un intervalo de confianza de 1,01377 a 1,01432; datos que se encuentran dentro de la especificación planteada. Asimismo, se obtuvo un descenso mínimo del pH de verificación de 7,3844 realizado antes de esterilizar el tanque respecto al pH de primeras unidades envasadas de 7,2322 realizado después de esterilizar el tanque, la esterilización es un fenómeno térmico que desestabiliza las moléculas por las temperaturas mantenidas, de 121°C en un lapso de 20 minutos, generando la oxidación de ciertas radicales hidroxilos de las proteínas y carbohidratos contenidos en el medio de cultivo; de igual manera, se evaluó la biocarga microbiana, tanto de bacterias mesófilas como de hongos y

levaduras, siendo menor a 10 UFC/mL, con la que el medio de cultivo ingresa al tanque descartando una posible contaminación futura en la línea estéril de producto. Por lo tanto, el dictamen de conforme es sustentado por las características fisicoquímicas y microbiológicas anteriormente sustentadas respecto a las especificaciones planteadas según certificado del medio de cultivo y corroboradas por lo requerido según USP 38 garantizando las condiciones ideales del medio TSB como soporte de crecimiento de los microorganismos ^{14, 16, 17}.

En la tabla 04 se obtuvieron resultados para el crecimiento de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras respecto al control ambiental de fabricación en un lapso de 24 a 48 horas, y 72 a 120 horas de incubación de 30 a 35°C, respectivamente. Se registró un máximo de 1 UFC/placa en los 7 puntos de muestreos evaluados en el total de lotes, cumpliendo con la especificación de un máximo de 5 UFC/placa según OMS reporte 45, y data histórica registrada en el control de calidad del laboratorio. Los datos demuestran que el sistema de calentamiento, ventilación y aire acondicionado, y control de limpieza de rutina realizado con los desinfectantes Tego 2000, Jonclean e Hipoclorito de sodio son eficaces para impedir la presencia de bacterias mesófilas aerobias suspendidas, hongos y levaduras en el ambiente originadas por las turbulencias causadas por el movimiento de los operarios, flujos de aire ocasionados por la presión positiva al interior del ambiente demostrando que el sistema mantiene un ambiente de clase C ^{4, 8}.

En la tabla 5 se muestran resultados del control de superficies de bacterias mesófilas, hongos y levaduras en el área de fabricación en el que se obtuvo lecturas menores a 1 UFC/placa, los cuales no son significativos respecto a un máximo de 2 y 5 UFC/placa según especificación de OMS reporte 45 y USP 38. El crecimiento de 1 UFC/placa es debido a una inadecuada praxis de cambio de vestimenta en las esclusas. A pesar de que existen una serie de factores relacionados al flujo de aire, entre ellos, el contacto del personal con las superficies (paredes, ventanas, equipos y piso), la limpieza y rotación de desinfectantes inadecuados, que promueven una posible contaminación, se indica el bajo nivel de microorganismos que se mantiene durante el proceso; por ello, se establece el dictamen de conforme a los 6 puntos evaluados, lo cual garantiza que las superficies se encuentran bajo control y pertenecen a un clase de ambiente C ^{10, 14, 15}.

En la tabla 6 se observa el control de producto envasado en que se compara las especificaciones emitidas en el certificado del medio de cultivo por el proveedor Merck KGaA respecto a los valores promedio registrados; se obtiene un medio con ca-

racterísticas organolépticas aceptables, un peso específico de 1,01345 con un intervalo de confianza de 1,01335 a 1,01354 el cual está dentro de la especificación planteada. De igual manera, se determinó la hermeticidad de las unidades envasadas en los 21 puntos de muestreo garantizando en todo el proceso de envasado que las unidades llenadoras de la máquina BFS 624 operaron eficazmente proporcionando sustento físico de hermeticidad para la prueba de esterilidad posteriormente realizada ^{8, 13, 15}.

En la tabla 7 se determinó el grado estéril en las 4 válvulas críticas de la línea de producto en los 3 lotes manufacturados las cuales fueron corroboradas visualmente frente a un control positivo y corroboradas con una especificación de estéril planteada por la USP 38 tanto para bacterias mesófilas, hongos y levaduras; por ello se obtiene la conformidad del análisis. ^{10, 14}.

En la tabla 8 se obtuvieron resultados para el crecimiento de bacterias mesófilas aerobias, hongos y levaduras respecto al control ambiental de envasado en un lapso de 24 a 48 horas, y 72 a 120 horas de incubación de 30 a 35°C; se regis-

tró <1 UFC/placa y 1 UFC/placa en los 6 primeros puntos de muestreo, y así cumple con la especificación de un máximo de 5 UFC/placa para ambientes de clase C; asimismo, se registró <1 UFC/placa frente a una especificación de <1UFC/placa para ambientes de clase A según OMS reporte 45 y data histórica registrada en el control de calidad del laboratorio.

En la tabla 9 se muestran resultados del control de superficies de bacterias mesófilas, hongos y levaduras en el ambiente de envasado, y se obtuvieron lecturas menores a 1 UFC/placa en los puntos 2, 3, y de 1 UFC/placa en el punto 1, los cuales no son relevantes respecto a un máximo de 5 UFC/placa según especificación planteada por la OMS reporte 45 y USP 38. El crecimiento de 1 UFC/placa se debe a una inadecuada praxis de cambio de guantes realizada en la esclusa 3 de personal donde el operario tuvo que salir y recibir materiales externos.

La validación del proceso de llenado aséptico de preparados oftálmicos es conforme, tanto en esterilidad, control fisicoquímico, ambiental, de superficies y del personal.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Grupo de Trabajo de Expertos. Good manufacturing practice for active pharmaceutical ingredients-Q7. International Conference on Harmonisation - ICH. [Archivo en línea]. Noviembre 2000. [Fecha de acceso: 14 de marzo del 2014], pp. 26, 27, 43. Disponible en: http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q7/Step4/Q7_Guideline.pdf
2. Agalloco J., Carleton F. Validation of Pharmaceutical Processes. 3º ed. Health care. Estados Unidos. 2007, pp 699 – 702.
3. U.S. Department of Health and Human Services, Et al. Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing. Food and Drug Administration. [Archivo en línea]. Septiembre 2004. [Fecha de acceso: 16 de marzo del 2014], pp. 8, 24, 25. Disponible: <http://www.fda.gov/downloads/Drugs/.../Guidances/ucm070342.pdf>
4. Comité de Expertos. Specifications for Pharmaceutical Preparations – Forty fifth Report. Organización Mundial de la Salud-OMS. [Archivo en línea]. 2011. [Fecha de acceso: 19 de marzo del 2014], pp. 102, 107, 108. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_961_eng.pdf
5. Grupo de Trabajo de Expertos. Pharmaceutical Development -Q8. International Conference on Harmonisation-ICH. [Archivo en línea]. Noviembre 2005. [Fecha de acceso: 20 de marzo del 2014], pp. 1, 2. Disponible en :http://www.ich.org/fileadmin/Public_Web_Site/ICH_Products/Guidelines/Quality/Q8_R1/Step4/Q8_R2_Guideline.pdf
6. Comité de Expertos. Buenas prácticas para la fabricación de productos estériles. CCECM. [Archivo en línea]. 2000. [Fecha de acceso: 20 de marzo del 2014], pp: 1, - 19. Disponible: <http://www.bvv.sld.cu/download.php?url=regulaciones/Cecmed007.pdf%E2%80%8E.pdf>
7. Gillian L., Bioconsult R., Anik E., Guía de la OMS sobre los requisitos de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF). OMS. [Archivo en línea]. 1998. [Fecha de acceso: 21 de marzo del 2014].II, p: 72. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/hq/1997/WHO_VSQ_97.01_spa.pdf

8. Ríos J. Validación preliminar del proceso de llenado aséptico en el área de inyectables del laboratorio VICAR FARMACÉUTICA S.A. Pontificia Universidad Javeriana. [Archivo en línea]. 2007. [Fecha de acceso: 23 de marzo del 2014].II, pp: 1-108. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis32.pdf>
9. Dirección general de medicamentos, insumos y drogas. Manual de buenas prácticas de manufactura de productos farmacéuticos. [Archivo en línea]. (V), pp. 78, 84-86. Febrero 1999. [Fecha de acceso: 27 de marzo del 2014]. Disponible en: http://www.digemid.minsa.gob.pe/RegLink.asp?Seccion=499&Idioma=1&Link=UpLoad/UpLoaded/ZIP/MANUAL_BPM.zip&Tipo=2&Origen=T
10. García E. Validación del proceso de llenado simulado de líquidos estériles en la industria farmacéutica. Universidad Nacional Autónoma de México. [Revista en línea]. Marzo 2009. [Fecha de acceso: 30 de marzo del 2014]. 1-67. Disponible en: <http://avalon.cuautitlan2.unam.mx/biblioteca/tesis/353.pdf>
11. Comité de expertos. Process Simulation for aseptically filled products. PDA. [Revista en línea]. 2011. [Fecha de acceso: 01 de abril del 2014], pp. 1-35. Disponible en: <https://store.pda.org/productcatalog/product.aspx?id=1180>
12. Comité de Expertos. Specifications for Pharmaceutical Preparations – thirty six Report. Organización Mundial de la Salud. OMS. [Archivo en línea]. 2012. [Fecha de acceso: 01 de abril del 2014], p 8. Disponible en: http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_902.pdf?ua=1
13. Consejo y Comité de Expertos. Farmacopea de los Estados Unidos de América. 36° ed. United Book Press. Estados Unidos. 2013, pp: 74-80
14. Morales C. Promoción de crecimiento y control negativo de medios de cultivo. 1° ed. VITALINE S.A.C. Perú. 2011. p: 1-7
15. Morales C. Análisis fisicoquímico del agua potable y del agua purificada. 1° ed. VITALINE S.A.C. Perú. 2011, pp: 1-6
16. Comité de Expertos. Specifications for Pharmaceutical Preparations – Forty six Report. Organización Mundial de la Salud-OMS. [Archivo en línea]. 2012. [Fecha de acceso: 19 de marzo del 2014], pp. 67-87. Disponible en: http://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/expert_committee/TRS-970-pdf1.pdf?ua=1
17. Consejo y Comité de Expertos. Farmacopea de los Estados Unidos de América. 35° ed. United Book Press. Estados Unidos. 2012, pp: 977 – 1000
18. Woodcock J. Pharmaceutical engineering guides for new and renovated facilities -Water and steam systems. ISPE. [Archivo en línea]. 2001. [Fecha de acceso: 01 de abril del 2014], pp. 1-21. Disponible en: <http://www.ispe.org/baseline-guides/water-steam-systems>