



UNIVERSIDAD TÉCNICA DE AMBATO
FACULTAD DE CIENCIA E INGENIERÍA EN ALIMENTOS
Y BIOTECNOLOGÍA



CARRERA DE BIOTECNOLOGÍA

Tema: Evaluación físico-química y microbiológica en el desempeño de las áreas de producción de productos naturales y cosméticos en el laboratorio NEOFÁRMACO del Ecuador CIA. LTDA.

Informe Final de Integración Curricular, modalidad de Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previa a la obtención del Título de Ingeniero Biotecnólogo, otorgado por la Universidad Técnica de Ambato, a través de la Facultad de Ciencias e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología.

Autor: Mosquera Sanchez Marco Antonio

Tutor: BQF. Irvin Ricardo Tubón Usca. PhD

Ambato – Ecuador

Septiembre - 2022

APROBACIÓN DEL TUTOR

BQF. Irvin Ricardo Tubón Usca. PhD

CERTIFICA:

Que el presente Informe Final de Integración Curricular ha sido prolijamente revisado. Por lo tanto, autorizo la presentación de este Informe Final de Integración Curricular bajo la modalidad de Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que responde a las normas establecidas en el Reglamento de Títulos y Grados de la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología

Ambato, 18 de Agosto de 2022.



Firmado electrónicamente por:

**IRVIN
RICARDO**

.....
BQF. Irvin Ricardo Tubón Usca. PhD

C.I. 0604250357

TUTOR

DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD

Yo, Marco Antonio Mosquera Sanchez, manifiesto que los resultados obtenidos en el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, previo a la obtención del título de Ingeniero Biotecnólogo son absolutamente originales, auténticos y personales; a excepción de las citas bibliográficas



.....

Marco Antonio Mosquera Sanchez

CI: 1805511753

AUTOR

APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO

Los suscritos Docentes calificadores, aprueban el presente Informe Final de Integración Curricular, modalidad Sistematización de Experiencias Prácticas de Investigación y/o Intervención, el mismo que ha sido elaborado de conformidad con las disposiciones emitidas por la Facultad de Ciencia e Ingeniería en Alimentos y Biotecnología de la Universidad Técnica de Ambato.

Para constancia firman:



Firmado electrónicamente por:
**SANTIAGO
CASADO**

.....
Presidente de Tribunal



Firmado electrónicamente por:
**DOLORES DEL ROCIO
ROBALINO MARTINEZ**

.....
Ing. Mg. Dolores del Rocío Robalino Martínez

C.I. 1801769488



Firmado electrónicamente por:
**MARIA EUGENIA
GARCIA PAZMINO**

.....
Ing. M.Sc. María Eugenia García Pazmiño

C.I. 2100248505

Ambato, 30 de Agosto de 2022

DERECHOS DEL AUTOR

Autorizo a la Universidad Técnica de Ambato, para que haga de este Informe Final de Integración Curricular o parte de él un documento disponible para su lectura, consulta y procesos de investigación, según las normas de la Institución.

Cedo los derechos en línea patrimoniales de mi Informe Final de Integración Curricular, con fines de difusión pública, además apruebo la reproducción de este dentro de las regulaciones de la Universidad, siempre y cuando esta reproducción no suponga una ganancia económica y se realice respetando mis derechos de autor.



.....

Marco Antonio Mosquera Sanchez

CI: 1805511753

AUTOR

DEDICATORIA

Dedico el presente trabajo a mis padres Jorfre García y Susana Sanchez por que han sido un apoyo y pilar fundamental en mi camino de desarrollo profesional, donde me han inculcado a ser una buena persona cada día y enseñándome que con esfuerzo, dedicación y constancia se cumplen las metas y objetivos propuestos.

A mi hermana Liliana Mosquera como ejemplo a seguir, por brindarme su cariño y apoyo incondicional, por aconsejarme en seguir adelante en mi formación académica y guiarme en el desarrollo del presente trabajo.

A mis compañeros y amigos Michelle Yugcha, Yonayker Sotomayor, Doménica Carillo y Christopher Guevara por brindarme su apoyo y amistad incondicional en toda la carrera universitaria.

A todos los que me han apoyado va dedicado el presente trabajo con mucho cariño y amor...

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, quiero agradecer a Dios, por permitirme alcanzar uno de mis sueños, por ponerme a las personas a las personas adecuadas en mi camino y finalmente por darme la sabiduría y fortaleza para terminar mi carrera universitaria.

Agradezco a mis padres por apoyarme en los momentos más difíciles de este largo camino sin dejarme caer y darme su confianza y paciencia a pesar de mis errores y defectos, siempre me han brindado amor y cariño.

Tengo el grato gusto de agradecer a Laboratorio Neofármaco, por brindarme la oportunidad de pertenecer a su prestigiosa institución, a su Director Técnico Carlitos Pazmiño y todos sus miembros Jefes y Analistas de Control de Calidad y Validaciones por recibirme de la manera más calurosa, especialmente a Rouss Balladares por su confianza en recomendarme y a Melissa Fiallos quien me ha guiado con mucha paciencia en el desarrollo de la tesis.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO

APROBACIÓN DEL TUTOR.....	ii
DECLARACIÓN DE AUTENTICIDAD.....	iii
APROBACIÓN DE LOS MIEMBROS DEL TRIBUNAL DE GRADO.....	iv
DERECHOS DEL AUTOR	v
DEDICATORIA	vi
AGRADECIMIENTOS	vii
ÍNDICE DE TABLAS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xi
RESUMEN.....	xiii
ABSTRACT.....	xiv
CAPÍTULO I.....	1
1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS.....	1
1.1.1 Descripción de la empresa	1
1.1.2 Gestión de calidad.....	1
1.1.3 Validación	3
1.1.4 Calificación	3
1.1.5 Clasificación de áreas y salas limpias	5
1.2 OBJETIVOS.....	13
1.2.1 Objetivo general.....	13
1.2.2 Objetivos específicos	13
CAPITULO II.....	14
2.1. Materiales	14
2.2 Métodos	16
2.2.1 Ensayo de conteo de las partículas contenidas en el aire	16
2.2.2 Ensayo de temperatura y humedad	17
2.2.3 Ensayo de la velocidad del aire/tasas de cambio de aire.....	18
2.2.4 Ensayo de la diferencia de presión.....	20
2.2.5 Análisis del índice de capacidad de proceso (Cp).....	21
2.2.6 Preparación de los medios de cultivo microbiológicos	21
2.2.7 Análisis microbiológico del área.....	22
2.2.8 Análisis microbiológico del sistema de aire y ventilación.....	26

CAPITULO III	30
3.1 Análisis y Discusión de resultados	30
CAPÍTULO IV	54
4.1 Conclusiones.....	54
4.2 Recomendaciones.....	55
MATERIALES DE REFERENCIA	57
Referencias bibliográficas	57
Anexos.....	65

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Clasificación según el tamaño y concentración de partículas contenidas en el aire para salas limpias y zonas anexas	6
Tabla 2. Ubicaciones de muestreo.....	7
Tabla 3. Métodos para el monitoreo microbiológico de partículas viables.	12
Tabla 4. Equipos utilizados para los ensayos físico-químicas y microbiológicas...	14
Tabla 5. Insumos y materiales utilizados	14
Tabla 6. Reactivos utilizados	15
Tabla 7. Medios de cultivo microbiológicos utilizados	15
Tabla 8. Puntos de muestreo en el área de Cosméticos.....	16
Tabla 9. Puntos de muestreo en el área de Productos Naturales.....	17
Tabla 10. Valores de volumen de cada sala limpia en el área de Cosméticos	19
Tabla 11. Valores de volumen de cada sala limpia en el área de Naturales.....	19
Tabla 12. Condiciones de incubación para el muestreo microbiológico.....	25
Tabla 13. Límites de contaminación microbiana recomendados	26
Tabla 14. Límites recomendados para la contaminación microbiana para el Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación.....	29
Tabla 15. Resumen de conteo de las partículas contenidas en el aire Área de Cosméticos.....	33
Tabla 16. Resumen de conteo de las partículas contenidas en el aire Área de Cosméticos.....	34
Tabla 17. Resumen de temperatura y humedad en el Área de Cosméticos	36
Tabla 18. Resumen de temperatura y humedad en el Área de Naturales.....	38

Tabla 19. Resumen de la uniformidad de velocidad del suministro de aire del área de Cosméticos	40
Tabla 20. Resumen de la uniformidad de velocidad de extracción de aire del área de Cosméticos	40
Tabla 21. Resumen de la uniformidad de velocidad del suministro de aire del área de Naturales	41
Tabla 22. Resumen de la uniformidad de velocidad de extracción de aire del área de Naturales	42
Tabla 23. Resumen de las renovaciones de aire en el Área de Cosméticos.....	42
Tabla 24. Resumen de las renovaciones de aire en el Área de Naturales	43
Tabla 25. Resumen de datos de presión diferencial del Área de Cosméticos.....	44
Tabla 26. Resumen de datos de presión diferencial del Área de Naturales	44
Tabla 27. Resumen del Análisis microbiológico del área (Método del Hisopo) en el Área de Cosméticos.....	46
Tabla 28. Resumen del Análisis microbiológico del área (Método del Hisopo) en el Área de Naturales.....	47
Tabla 29. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Cosméticos (Muestreo activo del difusor).....	49
Tabla 30. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Naturales (Muestreo activo del difusor)	50
Tabla 31. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Naturales (Muestreo activo del Área).....	51
Tabla 32. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Cosméticos (Muestreo activo del Área)	52
Tabla 33. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Cosméticos (Muestreo pasivo del Área).....	52
Tabla 34. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Naturales (Muestreo pasivo del Área)	53
Tabla 35. Puntos de ventilación y extracción del sistema de aires	75
Tabla 36. Puntos de ventilación y extracción del sistema de aires	76
Tabla 37. Evidencia fotográfica del muestreo de partículas	77
Tabla 38. Evidencia fotográfica del ensayo de temperatura y humedad.....	78

Tabla 39. Evidencia fotográfica del ensayo de la velocidad del aire/tasas de cambio de aire.....	79
Tabla 40. Evidencia fotográfica del muestreo microbiológico	80
Tabla 41. Evidencia de la preparación del medio de cultivo, del muestreo y de la incubación microbiológica	81

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo de superficies	22
Figura 2. Método de muestreo del hisopo.....	23
Figura 3. Gráfico de barras del promedio de concentración de partículas en las diferentes salas del Área de Cosméticos	33
Figura 4. Gráfico de barras del promedio de concentración de partículas en las diferentes locaciones del Área de Naturales	35
Figura 5. Gráficos de barras del promedio de temperatura y humedad de las diferentes salas del Área de Cosméticos y Productos Naturales.....	37
Figura 6. Gráfico de distribución Normal de los resultados de la concentración de partículas de tamaño 0,5 μm en el área de cosméticos	65
Figura 7. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 3520000 – LIE 0) para el tamaño de partícula de 0,5 μm en el área de cosméticos.....	65
Figura 8. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partículas de tamaño 1 μm en el área de cosméticos.....	66
Figura 9. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 832000 - LIE 0) para el tamaño de partícula 1 μm en el Área de Cosméticos	66
Figura 10. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partícula de tamaño 5 μm en el área de cosméticos	67
Figura 11. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 29300 – LIE 0) para el tamaño de partícula 5 μm en el área de cosméticos	67
Figura 12. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partícula de tamaño 0,5 μm en el área de productos naturales.....	68
Figura 13. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 3520000 – LIE 0) para el tamaño de partícula de 0,5 μm en el área de naturales.....	68

Figura 14. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partículas de tamaño 1 µm en el área de naturales	69
Figura 15. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 832000 - LIE 0) para el tamaño de partícula 1 µm en el área de naturales	69
Figura 16. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partícula de tamaño 5 µm en el área de naturales	70
Figura 17. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 29300 – LIE 0) para el tamaño de partícula 5 µm en el área de naturales	70
Figura 18. Distribución Normal de los resultados de temperatura en el área de cosméticos	71
Figura 19. Gráfico del límite de tolerancia para los resultados de temperatura del área de cosméticos.	71
Figura 20. Distribución Normal de los resultados de Humedad en el área de cosméticos	72
Figura 21. Gráfico del límite de tolerancia para los resultados de Humedad del área de cosméticos.	72
Figura 22. Distribución Normal de los resultados de temperatura en el área de naturales	73
Figura 23. Gráfico del límite de tolerancia para los resultados de Humedad del área de naturales.....	73
Figura 24. Gráfico de Tolerancia para la Temperatura en el Área de Naturales	74
Figura 25. Gráfico de Tolerancia para la Temperatura del Área de Naturales	74
Figura 26. Plano de la planta de producción cosméticos	83
Figura 27. Plano de los puntos de muestra de aire y ventilación cosméticos	84
Figura 28. Plano de la planta de producción de productos naturales.....	85
Figura 29. Plano de los puntos de muestra de aire y ventilación naturales.....	86

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se evaluó el desempeño físico-químico y microbiológico de las áreas de producción de cosméticos y productos naturales en el Laboratorio Neofármaco del Ecuador domiciliada en la ciudad de Ambato. Los laboratorios farmacéuticos requieren autorización legal para elaborar medicamentos en general, para ello, deben cumplir ciertas normativas como las buenas prácticas de manufactura (BPM) establecidas por las autoridades regulatorias de sanidad nacional e internacional, asegurando los procesos de producción y la calidad de los productos. En la evaluación del desempeño, se ejecutaron pruebas físico-químicas; donde se determinó la temperatura y humedad, la concentración de partículas en el aire con sus respectivos índices de capacidad de proceso (Cp), la presión diferencial, la velocidad y tasas de cambio de aire. A continuación, se efectuó un monitoreo ambiental microbiológico del aire mediante diferentes muestreos como el activo del área, activo del difusor y el muestreo pasivo. Por otra parte, para la evaluación microbiológica de superficies se aplicó el muestreo del hisopo, donde, se realizó un recuento microbiológico de aerobios totales, mohos-levaduras y *Salomonella spp.* En conclusión, con los resultados obtenidos se demostraron que ambas áreas cumplen con todas las especificaciones establecidas y mantienen resultados consistentes, lo cual asegura la inocuidad en la fabricación de productos farmacéuticos no estériles.

Palabras Clave: Gestión de Calidad, BPM, Laboratorios Farmacéuticos, Normas de Calidad, Normas ISO, Laboratorio Neofármaco, Productos Cosméticos y Productos Naturales

ABSTRACT

In this study, was evaluated the physicochemical and microbiological performance of the production areas of cosmetics and natural products at “Laboratorio Neofármaco del Ecuador”, located in the city of Ambato. Pharmaceutical laboratories require legal authorization to produce medicines in general, and they must comply with certain regulations such as good manufacturing practices (GMP) established by national and international health regulatory authorities, ensuring production processes and product quality. For performance evaluation, physicochemical tests were carried out to determine the temperature and humidity, the concentration of particles in the air with their respective process capability indexes (Cp), differential pressure, velocity air and exchange air rates. Then, a microbiological environmental monitoring of the air was carried out by means of different samplings such as active sampling in the area, active sampling of the diffuser, and passive sampling. On the other hand, for microbiological evaluation of surfaces, the swab sampling method was applied, where a microbiological count of total aerobes, molds-yeasts and *Salmonella spp* was performed. To conclude, it was demonstrated that both areas comply with all the established specifications and maintain consistent results, which ensures the safety in manufacture of non-sterile pharmaceutical products.

Keywords: Quality Management, GMP, Pharmaceutical Laboratories, Quality Standards, ISO Standards, Neofarmaco Laboratory, Cosmetic Products and Natural Products

CAPÍTULO I

1.1. ANTECEDENTES INVESTIGATIVOS

1.1.1 Descripción de la empresa

Laboratorio Neofármaco del Ecuador ha sido diseñada y construida en base a las Buenas Prácticas de Manufactura, cumpliendo con las más altas exigencias a nivel internacional. La calidad es asegurada mediante parámetros claramente establecidos, cumpliendo rigurosamente en cada uno de sus departamentos. Además, cuenta con maquinaria y equipos de alta tecnología manteniéndose a la vanguardia en los procesos de producción de medicamentos a nivel mundial, garantizados por un estricto control de calidad **(Neofarmaco, 2021)**.

1.1.2 Gestión de calidad

La gestión de calidad es un mecanismo desarrollado para detectar, reducir y corregir posibles deficiencias analíticas internas, antes de emitir resultados. Además son mecanismos, acciones y herramientas que sirven para detectar errores, por lo tanto, la implementación de un sistema de gestión de calidad en empresas farmacéuticas es una decisión estratégica de las organizaciones, debido a que permite mejorar el desempeño a nivel global, proporcionando una base sólida para futuras iniciativas futuras con el fin de lograr desarrollo sostenible **(International Organization for Standardization, 2015)**.

Existen diferentes entidades internacionales como la Organización Mundial de la Salud (OMS), Organización Internacional de Normalización (ISO), Food and Drug Administration (FDA), entre otras entidades encargadas de regular la industria farmacéutica. Así mismo en el Ecuador la Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria (ARCSA) es la entidad responsable de vigilar las condiciones higiénico – sanitarias de los productos de uso y consumo humano, para asegurar la

calidad de los productos farmacéuticos y controlar con eficacia los procesos de producción en zonas y salas limpias (**Agencia Nacional de Regulación, Control y Vigilancia Sanitaria, 2017; Peter Bonner & Holloway, 2010**)

Buenas Prácticas de Manufactura para productos farmacéuticos

En la industria farmacéutica, las buenas prácticas de manufactura es aquella parte del aseguramiento de la calidad que controla la producción de productos estériles y no estériles, con la finalidad de que cumplan con los estándares de calidad apropiados para su uso previsto con su respectiva autorización de comercialización. Las BPM (Buenas Prácticas de Manufactura) principalmente se encargan de disminuir los riesgos inherentes en cualquier producción farmacéutica. Tales riesgos esencialmente son de dos tipos: la contaminación cruzada con contaminantes inesperados y el segundo como mezclas causadas generalmente por confusiones. Las BPM tienen como objetivo promover la salud humana y, en consecuencia, mejorar de la calidad de vida (**Organización Mundial de la Salud, 2003**).

BPM para productos farmacéuticos en el Ecuador

En el Ecuador la Ley Orgánica de Salud según R. O N°449 del 20 de Octubre del 2008, en el Artículo 131 establece: “*El cumplimiento de las normas de buenas prácticas de manufactura, almacenamiento, distribución, dispensación y farmacia, será controlado y certificado por la autoridad sanitaria nacional*”, mientras que el Artículo 129, dispone que: “*El cumplimiento de las normas de vigilancia y control sanitario es obligatorio para todas las instituciones, organismos y establecimientos públicos y privados que realicen actividades de producción, importación, exportación, almacenamiento, transporte, distribución, comercialización y expendio de productos de uso y consumo humano*” (**ARCSA, 2015**).

Por lo tanto, los laboratorios farmacéuticos son establecimientos que necesitan autorización para producir o elaborar medicamentos en general; deben cumplir con las normas de buenas prácticas de manufactura (BPM); a su vez están establecidas por la diferentes autoridades regulatorias de sanidad nacional y finalmente estar bajo la dirección técnica de químicos farmacéuticos o bioquímicos farmacéuticos (**Ministerio de Salud Pública, 2013**).

1.1.3 Validación

En la industria farmacéutica es importante englobar los conceptos de calificación y validación; estos sistemas o herramientas dentro de las BPM, aseguran de manera documentada que un proceso realizado es viable, seguro, eficiente y reproducible. La validación efectiva de un proceso contribuye significativamente a asegurar la calidad mediante la recopilación y evaluación documentada con un alto grado de garantía para que un proceso, método o sistema esté capacitado para su uso previsto. Por lo tanto, la validación promueve que los fabricantes comprendan y controlen todos los procesos relevantes para la calidad, incluida la evaluación de riesgos. A diferencia de la calificación, la validación aplica a procesos y procedimientos (**Food and Drug Administration, 2011; Patrick Katz, 2016**).

1.1.4 Calificación

Según el Anexo 5 de la guía de BPM de la OMS, establece que la calificación de un sistema, equipo o área; es planificar, realizar y registrar las pruebas en un equipo o sistema, formando parte del proceso validado, con la finalidad de demostrar que funcionará según lo previsto (**OMS, 2011**). Por otro lado, la calificación en la industria farmacéutica proporciona orientación e información básica para la preparación de un programa de calificación de calidad mediante la verificación documentada del sistema; garantizando que cumpla con los estándares de calidad con la que fue previamente diseñada y exigida por la normativa y autoridad regulatoria vigente (**Ostrove, 2019**).

Calificación de zonas blancas o salas limpias

Al referirse a salas blancas o áreas blancas, es importante mencionar que la calidad de un producto está determinada por el diseño en los procesos de fabricación, por ende debe cumplir con una adecuada asepsia, con un correcto estado de los equipos e instalaciones; para ello una sala o área limpia debe estar bajo un control ambiental definido, tanto de contaminación microbiana y de partículas, de tal manera la sala limpia debe garantizar que se logre minimizar o eliminar la contaminación externa mediante la evaluación sistemática de las vulnerabilidades del proceso y de factores operativos **(Cleanroom Industries Sdn. Bhd., 2015)**

Por lo tanto, la calificación de una sala limpia contempla: la verificación documentada realizada con el fin de asegurar que el diseño de la instalación, los sistemas de apoyo, entre otros, se hayan construido de acuerdo con las especificaciones de diseño aprobadas, garantizando que las instalaciones, equipos y el entorno cumplan con los requerimientos de usuario (URS) y juntos funcionen como un sistema controlado. Las salas blancas se califican según la clase elegida dentro de la ISO 14644-1, cada clase tiene requisitos únicos establecida para clasificar a las instalaciones **(OMS, 2012, 2011)**

Calificación del desempeño (PQ)

La calificación de desempeño es la evaluación o verificación documentada de un sistema, equipo o área para demostrar que éste opera según los rangos establecidos dentro de las condiciones para una producción adecuada. Además, tiene como propósito demostrar con evidencia objetiva que la sala limpia opera consistentemente dentro de los parámetros definidos, produciendo un resultado ambiental conforme y deseado en salas limpias o áreas blancas para la industria farmacéutica **(Bennett, Cole, & Britain, 2003; Cleanroom Industries Sdn. Bhd., 2015).**

1.1.5 Clasificación de áreas y salas limpias

Las salas o áreas limpias son ambientes altamente controlados, donde la calidad del aire es monitoreada para asegurar que el área cumple con los estándares de asepsia, de igual modo, existen otros parámetros a controlar, como el de garantizar un alto flujo de aire fresco, una correcta filtración del aire, el monitoreo en la temperatura y humedad. Finalmente, la creación de un diferencial de presión permite la protección, del incontrolado ingreso de aire del ambiente hacia la sala limpia **(Esteves et al., 2016)**.

Asimismo, un área limpia es definida como una zona o local con un debido control de la contaminación ambiental tanto microbiana y de partículas; dicha sala es construida de tal manera que asegure la inocuidad dentro del área **(OMS, 2017)**. Además, para controlar de la concentración de partículas contenidas en el aire tanto viables y no viables, dentro de las salas limpias, es fundamental el correcto funcionamiento del sistema de aire y de los filtros HEPA (High Efficiency Arrestance), los cuales realizan la purificación del aire al retener las partículas contaminantes del ambiente **(Vargas, 2017)**.

La clasificación para salas limpias o áreas blancas siendo parte de la calificación, es un método para asegurar el nivel de limpieza del aire de acuerdo con las especificaciones de salas limpias, mediante la medición de la concentración de las partículas no viables contenidas. Además, se basa en la norma ISO 14644-1 (Clasificación de Salas Limpias y locales anexos), la misma que establece un conjunto de estándares y ensayos para la clasificación de salas blancas, permitiendo demostrar el cumplimiento de los criterios de funcionamiento de una instalación.

Para la medición de la concentración de partículas contenidas en el aire, se especifica para los diferentes tamaños de partícula, comprendido entre 0,5 μm y 5 μm según la tabla 1, para certificar o verificar la limpieza de la instalación según la norma ISO-14644-1. Por otro lado, la OMS clasifica a las áreas limpias como grado A, B, C y D **(ISO, 2016, 2014; OMS, 2012, 2017)**. En definitiva, Laboratorio Neofármaco del

Ecuador establece que las áreas de cosméticos y productos naturales deben encontrarse en una clasificación ISO-8 y grado D para la producción de medicamentos no estériles.

Tabla 1. Clasificación según el tamaño y concentración de partículas contenidas en el aire para salas limpias y zonas anexas

Grado/ Clasificación	Valores máximos de la concentración de partículas (partículas/m ³)		
	0,5 µm	1 µm	5 µm
Grado A/ ISO 5	3 520	832	20
Grado B/ ISO 6	35 200	8 320	2930
Grado C /ISO 7	352 000	83 200	2 930
Grado D/ ISO 8	3 520 000	832 000	29 300

Nota. Recuperado de ISO, (2016) & OMS, (2012)

Conteo de partículas contenidas en el aire

La medición de partículas en ambientes controlados es importante, debido a que una alta presencia de partículas contaminantes puede afectar negativamente la producción y la productividad en cualquier industria farmacéutica, por otro lado, en el aspecto legislativo establece que debe cumplir con los estándares de calidad requeridos para obtener las respectivas autorizaciones y licencias exigidas por instituciones gubernamentales y entidades regulatorias internacionales. Finalmente, el último aspecto a considerar son las consecuencias que puede ocasionar en la salud humana. Por ende, un sistema de monitoreo ambiental para cualquier proceso de fabricación que requiera una sala limpia, garantizará que la producción no se exponga a una concentración alta de partículas contaminantes (Castaño & Orozco, 2008; Cobo et al., 2008).

Para clasificar una sala limpia, se necesita medir de la cantidad de partículas no viables para los diferentes tamaños contenidas en un volumen de aire establecida por la normativa. Según establece la ISO 14644-1, una sala limpia clasificada como ISO 8,

debe contener partículas con un tamaño que van de 0,5 a 5 micras a una concentración menor a 3520000 y 29300 partículas respectivamente. En concreto, las salas blancas ISO 8 suelen corresponderse con el grado D que establece la OMS para zonas en las que normalmente se realizan fases menos críticas de un proceso (ISO, 2016, 2014).

Para el recuento de partículas en el aire, se emplea un contador de partículas que mediante la dispersión de la luz mide la presencia las partículas independientemente de la composición o forma. Por otro lado, el tiempo de muestreo es crítico para conocer el volumen de muestra y la tasa de muestreo determinada, de este modo el volumen de muestra por ubicación comúnmente es de al menos 2 litros por 1 minuto (Spectro Scientific, 2014; OMS, 2011). De igual manera, se debe tomar en cuenta el número de mediciones por ubicación dentro de cada área blanca o sala limpia, ya que está en base a valores hipergeométricos establecidos en la normativa ISO 14644-1 en la tabla 2 (ISO, 2016).

Tabla 2. Ubicaciones de muestreo

Área de sala limpia (m ²) menor o igual que	Número mínimo de ubicaciones de muestreo
2	1
4	2
6	3
8	4
10	5
24	6
28	7
32	8
36	9
52	10
56	11
64	12
68	13
72	14
76	15
104	16
108	17
116	18
148	19

156	20
192	21
232	22
276	23
352	24
436	25
636	26
1000	27
>1000	NL*(A/1000)

Nota. Recuperado de International Organization for Standardization, (2016).

Temperatura y humedad en salas limpias

Es fundamental monitorear la temperatura y humedad relativa, para asegurarse que sean apropiadas y no afecten negativamente a la calidad de los productos farmacéuticos durante su manufactura; generalmente se emplean termohigrómetros para monitorear dichos parámetros. De modo que, ambas deben ser debidamente monitoreadas para garantizar el correcto desempeño, cumpliendo así con los requisitos dispuestos y proporcionando un ambiente adecuado para materiales y productos. La humedad aparentemente no puede parecer una causa obvia de problemas, sin embargo, en el ámbito farmacéutico puede comprometer negativamente al principio activo de medicamentos **(Esteves et al., 2016)**.

En consecuencia, un ambiente con una alta temperatura y humedad relativa puede alentar el crecimiento microbiano; donde los microorganismos patógenos pueden depositarse en las corrientes de aire o sobre superficies, para ello, ambos parámetros deben ser adecuados **(Page, 2020; Ginty, 2018)**. De este modo, para asegurar la calidad en sus productos, Laboratorio Neofármaco ha establecido una temperatura mínima de 30°C y una humedad relativa mínima de 70%.

Presión diferencial en salas limpias

La presión diferencial en las instalaciones de salas blancas se refiere a la diferencia de presión existente en habitaciones adyacentes. En las salas blancas, mantener una de presión diferencial adecuada, ya sea positiva o negativa, es esencial para prevenir y minimizar la contaminación en el aire desde las salas menos limpias hasta las más limpias. En consecuencia, las instalaciones de fabricación en general deben mantener una presión positiva respecto al exterior, limitando así la entrada de contaminantes, por otro lado, las instalaciones donde se realizan la producción de comprimidos (sólidos) con recubrimiento deben ser mantenidas a presión negativa para evitar el escape de productos o algún compuesto potencialmente dañino al ambiente **(Page, 2020; Sun, 2013; Whyte, 2010)**.

La Norma ISO 14644-4 en su apéndice A.5.3 y el Anexo 6 Serie de informes técnicos, No. 961 de la OMS establecen que el diferencial de presión más aceptado para la eficiente contención entre zonas adyacentes debe ser de al menos 15 Pascales (Pa), de igual modo el rango aceptable está entre 5 y 20 Pa, para permitir que las puertas se abran fácilmente, evitar flujos transversales, inversiones de flujo y turbulencias **(Cleanroom Supplies Ltd, 2015; OMS, 2011)**.

Flujo de aire/tasas de cambio de aire en salas limpias

El flujo de aire en los procesos de producción se estudia con el fin de demostrar que el flujo y sus turbulencias no interfieran con los procesos críticos de producción. Existen dos tipos de salas blancas: flujo unidireccional y no unidireccional, según la aplicación requerida. Las áreas de flujo de aire unidireccional se utilizan para estados de mayor limpieza ya que usan altas cantidades de aire en comparación al flujo no unidireccional. La normativa ISO 14644-3 (Salas limpias y ambientes controlados asociados. Parte 3: Métodos de ensayo) expresa que los cambios de aire por hora en salas limpias deben ser diferentes para un flujo de aire unidireccional y no unidireccional **(Boss, 2021)**.

Es importante realizar mediciones de la velocidad del aire en zonas y salas limpias, debido a que permite obtener el volumen de aire impulsado dentro de la instalación por unidad de tiempo, dicho valor ayuda a obtener las renovaciones de aire por unidad de tiempo. Además, un adecuado flujo de aire permite alcanzar una concentración de partículas dentro de los límites para cada clase o grado de salas limpias **(Sandle, 2016)**.

De igual manera, un factor crítico a controlar en el diseño de salas blancas es el cambio de aire por hora (ACH), también conocido como tasa de cambio de aire o ACR; es un componente esencial para los estándares de clasificación. Esto quiere decir, el número de veces por hora que el aire exterior filtrado reemplaza el volumen existente en un edificio o sala. En consecuencia, las salas blancas con flujo de aire unidireccional de clase 5 o superior, tienen las clasificaciones de sala limpia más estrictas. Dichos entornos, permanecen extremadamente limpios debido a que mantienen un flujo constante de aire filtrado libre de contaminantes y evitan que las partículas se depositen en las superficies **(Tim Sandle, 2016a; Terra Universal Inc., 2012)**.

Según el Anexo 5 Serie de informes técnicos de la OMS, No 961 establece que las tasas de cambio de aire normalmente deben encontrarse en el rango de 6 y 20 cambios de aire por hora. Por otro lado, la Norma ISO 14644-3 establece que el coeficiente de variación para la velocidad del flujo de aire debe ser menor al 5% de RSD **(ISO, 2019; OMS, 2011)**.

Desviación Estándar Relativa (RSD)

La desviación estándar relativa, puede ser calculada mediante el coeficiente de variación (CV) que relaciona la desviación estándar y el promedio. Usualmente el CV se multiplica por 100 para expresarlo como un porcentaje llamado desviación estándar relativa (relative standard deviation, RSD o % RSD). El RSD es útil debido a que muestra la variabilidad en perspectiva del centro de distribución **(De Muth, 2019)**.

Monitoreo ambiental de microorganismos

La carga biológica es la cantidad de microorganismos que viven en una superficie, para su control, se requiere de un monitoreo ambiental microbiológico con el objetivo de medir el número total partículas viables, para obtener información sobre el estado de la instalación, garantizando que los productos elaborados en el campo farmacéutico o médico presenten niveles microbianos adecuados para el proceso y manipulación, **(ISO, 2014; Sandle, 2019).**

La importancia de un monitoreo ambiental microbiológico en las áreas de fabricación de productos estériles y no estériles radica en la detección de la presencia de microorganismos patógenos que puedan afectar a la salud del consumidor. Es decir, es un medio para demostrar que la sala o área limpia presenta una calidad microbiológica dentro de los límites permitidos con el objeto de detectar cambios significativos de manera oportuna. Dicho monitoreo de salas blancas generalmente está bajo la responsabilidad del departamento de microbiología, donde implica la recopilación de datos de microbios recuperados en muestras de aire, superficies y personas dentro de un área limpia o entorno de fabricación o proceso. Además permite conocer la efectividad de los programas de limpieza y desinfección, y el desempeño operativo de los controles ambientales **(Tim Sandle, 2016a, 2019a).**

Mantener los niveles bajos de contaminación en ambientes donde se desarrollan actividades de producción en la industria farmacéutica es fundamental para asegurar la calidad de los productos en las áreas clasificadas **(Javier Bottale & Ceferina Riera, 2016).** Para ello la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece límites recomendados para microorganismos, donde interpreta una lista de cuatro pruebas independientes tales como: 1) muestreo volumétrico, 2) placas de sedimentación, 3) placas de contacto y, 4) pinceladas con los dedos; deben realizarse durante el monitoreo de una sala limpia, aunque no es obligatorio realizar todas las pruebas o ensayos durante cada actividad de monitoreo en todas las clases o grados de sala limpia

(OMS, 2012). Es recomendable realizar ensayos para determinar aerobios totales, mohos-levaduras y realizar al menos un análisis para detectar o determinar patógenos.

Para el monitoreo del aire tal como se observa en la tabla 3, se lleva a cabo utilizando diferentes métodos tales como las placas de sedimentación de agar (colocadas en los lugares de mayor riesgo) o muestreadores de aire activos (volumétricos) para proporcionar una evaluación cuantitativa de la cantidad de microorganismos en el aire por volumen de aire muestreado (Tim Sandle, 2016b).

Tabla 3. *Métodos para el monitoreo microbiológico de partículas viables.*

	Aire	Superficie
Método #1	Muestreador de aire activo (ufc/m ³)	Superficie de contacto (ufc/25cm ²)
Método #2	Placas de sedimentación (ufc/90 mm)	Hisopo (ufc/superficie)

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo general

“Evaluar mediante ensayos físico-químicos y microbiológicos el desempeño de las áreas de producción de cosméticos y productos naturales en el laboratorio Neofármaco del Ecuador Cia. Ltda.”

1.2.2 Objetivos específicos

- Realizar ensayos físico-químicos en las áreas de producción de productos naturales y cosméticos para el control y clasificación de áreas limpias.
- Evaluar la presencia de aerobios totales, mohos, levaduras y patógenos mediante análisis microbiológicos, en las áreas de producción de productos naturales y cosméticos.
- Determinar si los parámetros físico-químicos y microbiológicos de las áreas de producción de productos naturales y cosméticos cumplen con lo especificado en la normativa de áreas limpias ISO Clase 8 - Grado D en función de la ISO 14644-3 y la OMS.

CAPITULO II

2.1. Materiales

Tabla 4. Equipos utilizados para los ensayos físico-químicas y microbiológicas

Equipos	MARCA
Contador de Partículas	Met One
Termohigrómetro	Elicrom
Termohigrómetro	Boeco
Flujómetro	Shortridge Instruments
Anemómetro	Hold Peak
Manómetros de Presión Diferencial	Magnehelic
Muestreador microbiológico de partículas	Sugold
Autoclave	Phoenix Luferco
Baño María	Memmert
Cabina de flujo laminar	Thermo Scientific
Incubadora	Memmert
Micropipeta semiautomática	HandyStep
pH-Metro	Mettler Toledo
Balanza Analítica	Sartorius

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Tabla 5. Insumos y materiales utilizados

Insumos
1 Traje antifluido
2 Mandil
3 Protector de Cabello
4 Cooler
5 Marcador para Rotular
6 Gel refrigerante
7 Guantes estériles
8 Gradilla

- 9 Puntas
- 10 Diluyente estéril
- 11 Frascos estériles
- 12 Hisopos de algodón, de largo aproximado de 12 cm
- 13 Tubo de ensayo con tapa hermética de 10 mL
- 14 Plantilla estéril, con un área en el centro de 100 cm²
- 15 Parafilm

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Tabla 6. Reactivos utilizados

Reactivos
1 Agua purificada
2 NaOH
3 HCL

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Tabla 7. Medios de cultivo microbiológicos utilizados

Medios de Cultivo
1 Agar Soya Trypticase (TSA)
2 Agar Sabouraud Dextrosa (SAB)
3 Caldo Soja Trypticaseína (TSB)
4 Agar Xilosa Lisina Desoxicolato (XLD)

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

2.2 Métodos

2.2.1 Ensayo de conteo de las partículas contenidas en el aire

Este ensayo especificó la medición de las concentraciones de partículas contenidas en el aire, donde el tamaño mínimo de partícula deberá estar comprendido entre 0,5 μm y 1 μm para la clasificación ISO-8/Grado-D. Las mediciones se realizaron en un día de jornada laboral matutina, con el fin de verificar y determinar la limpieza del aire para la clasificación de áreas en función de la Norma ISO 14644-1 y la OMS en su guía de “Monitoreo Ambiental para Salas Limpias” (ISO, 2016 & OMS, 2012).

Procedimiento: En primer lugar, se definió el número total de puntos para la toma de muestras del área según la tabla 2, previamente se realizaron mediciones de las dimensiones en metros cuadrados de cada sección para calcular sus áreas, según las tablas 8 y 9, tanto para la planta de producción de cosméticos como de productos naturales del Laboratorio Neofármaco del Ecuador. Posteriormente, se procedió con la medición durante 60 segundos en cada punto, teniendo en cuenta que, la entrada de la sonda del contador de partículas (Met One) permanezca en dirección vertical a una considerable altura de trabajo. Finalmente, se recopilaron los datos de la diferencia de presión durante 5 días de funcionamiento.

Criterio de aceptación: Clasificación ISO-8/Grado-D, para áreas de preparación de medicamentos no estériles (ISO, 2016; OMS, 2012).

Tabla 8. Puntos de muestreo en el área de Cosméticos

Ubicación	Área de Cosméticos	
	Área (m^2)	Puntos de muestreo
CABINA 1	18,55	6
CABINA 2	13,44	6
CABINA 3	18,09	6
PASILLO	37,81	10

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Tabla 9. Puntos de muestreo en el área de Productos Naturales

Área de Productos Naturales		
Ubicación	Área (m²)	Puntos de muestreo
CABINA 1	7,14	4
CABINA 2	12,24	6
CABINA 3	12,26	6
CABINA 4	31,26	8
ÁREA DE PESAJE	12,17	6
PASILLO	31,94	8

Elaborado por: Mosquera M, (2022).

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

2.2.2 Ensayo de temperatura y humedad

Este ensayo permitió demostrar que las áreas y su sistema de aire y ventilación, tienen la capacidad de mantener el nivel de temperatura y humedad dentro de los límites fijados según la normativa ISO14644-3 (**ISO, 2019**). Las mediciones se realizaron en un mes de jornada laboral matutina.

Procedimiento: El ensayo se efectuó después de encender por 2 horas el sistema del aire para estabilizar las condiciones del área. Luego, para la toma de mediciones en el área de cosméticos, cada cabina contó con un termohigrómetro instalado (Boeco). Por otro lado, para el área de productos naturales se empleó un termohigrómetro portable (Elicrom). Finalmente, las mediciones se realizaron a las 9h00, 13h00 y 16h00 del día en una jornada laboral matutina en ambas áreas según la tabla 8 y 9. Se recopilaron los datos de temperatura y humedad durante un mes de funcionamiento.

Criterio de aceptación: Laboratorio Neofármaco del Ecuador establece que temperatura no debe ser mayor a 30°C y la humedad relativa no debe ser mayor al 70%.

2.2.3 Ensayo de la velocidad del aire/tasas de cambio de aire

Este ensayo permitió medir la velocidad y las tasas de cambio de aire impulsado en salas y zonas limpias. Para ello, la medición del caudal de aire impulsado se efectuó con el fin de obtener las renovaciones de aire por unidad de tiempo, además, el ensayo de velocidad del aire se efectuó con el fin de medir la uniformidad del flujo en zonas limpias (ISO, 2019).

Procedimiento: En primer lugar, se realizó la medición del caudal de aire en cada punto de suministro de aire en pies cúbicos por minuto (CFM) por medio de un Balómetro (Shortridge Instruments). Por otro lado, para medir la velocidad de aire de suministro, se realizó mediante un Balómetro con su modo de medición en metros/segundos. Finalmente, para medir la velocidad de extracción de aire se realizó mediante un Anemómetro (Hold Peak). Las mediciones se realizaron tomando en cuenta las tablas 35 y 36, durante 5 días de jornada laboral matutina por triplicado.

Criterio de aceptación: Laboratorio Neofármaco del Ecuador establece que los cambios de aire deben ser ≥ 20 cambios/hora y la uniformidad de la velocidad de flujo de aire $< 5\%$ RSD.

Cálculo para los cambios de aire/ hora

Se debe tomar en cuenta los CFM previamente medidos y el volumen de la sala limpia según las tablas 10 y 11. Por lo tanto, para el cálculo se utilizó la siguiente fórmula:

$$R_s = \frac{P_{CFM} * 60}{V_a}$$

R_S : Renovaciones de aire de suministro

P_{CFM} : Promedio de las 3 mediciones del caudal en CFM de cada suministro de aire

V_a : Volumen de sala limpia o cabina

Tabla 10. Valores de volumen de cada sala limpia en el área de Cosméticos

Área de Cosméticos	
Ubicación	Volumen (m³)
CABINA 1	3779,81
CABINA 2	1884,48
CABINA 3	4219,55
PASILLO	2030,98

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Tabla 11. Valores de volumen de cada sala limpia en el área de Naturales

Área de Naturales	
Ubicación	Volumen (m³)
CABINA 1	732,35
CABINA 2	1275,67
CABINA 3	1276,94
CABINA 4	10057,62
ÁREA DE PESAJE	1195,01
PASILLO	1769,65

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Cálculo de los cambios de aire/ hora de la cabina

Para el cálculo de Cambios de aire/ Hora de la cabina se debe sumar el resultado de R_S previamente obtenido de cada punto de ventilación dependiendo de la cabina.

Se empleó la siguiente fórmula:

$$R_T = \sum R_S$$

R_T : Renovaciones de aire total de la cabina

Cálculo del coeficiente de variación (RSD)

Se debe tomar en cuenta el promedio y la desviación estándar de la velocidad medida por cada suministro y extracción de aire en ambas áreas. Para el cálculo se empleó la siguiente fórmula:

$$\%RSD = \frac{\sigma}{\bar{x}} * 100$$

σ : Desviación estándar de las réplicas

$\bar{x}$: Promedio de las réplicas

$\%RSD$: Coeficiente de variación

2.2.4 Ensayo de la diferencia de presión

En este ensayo se permitió verificar la capacidad del área y del sistema de aire para mantener el diferencial de presión especificado entre la instalación y zonas anexas (ISO, 2019).

Procedimiento: El ensayo se efectuó después de encender por 2 horas el sistema del aire para estabilizar las condiciones del área. A continuación, las mediciones se tomaron a las 9h00, 13h00 y 16h00, por un mes de jornada laboral matutina por triplicado en cada área por medio de la visualización de manómetros mecánicos de presión diferencial (Magnehelic) instalados en cada cabina.

Criterio de aceptación: La presión diferencial debe estar en el rango de 5 - 62 Pa (0,02-0,25 In H₂O) (OMS, 2011).

2.2.5 Análisis del índice de capacidad de proceso (Cp)

Se realizó un análisis de capacidad de proceso de valores individuales para los resultados obtenidos de conteo de partículas, temperatura y humedad mediante el programa estadístico “*STATGRAPHICS CENTURION XIX*” Versión 19.3.02 proporcionado por el Laboratorio Neofármaco del Ecuador. Posteriormente, se evaluaron los valores de Cp, para verificar que las áreas producen resultados ambientales dentro de límites predefinidos.

2.2.6 Preparación de los medios de cultivo microbiológicos

Se realizó la preparación de caldo de soja tripticaseína (TSB), de agar soya tripticasa (TSA), agar Sabouraud, y agar xilosa lisina desoxicolato (XLD). Para ello, se utilizó agua purificada que cumple con los parámetros de conductividad $< 5 \frac{\mu S}{cm}$ y $< 5 \frac{UFC}{mL}$ de acuerdo con la Organización Internacional de Normalización (ISO, 2015). A continuación, con ayuda de una probeta se transvasó el volumen de agua requerido en cada frasco, luego en un pesa-muestras (aluminio) se pesó el medio de cultivo deshidratado en una balanza analítica (Sartorius) y se colocó en el frasco correspondiente. A continuación, se llevó los frascos a baño maría a 60°C para mejorar la disolución y evitar grumos. Posteriormente ajustó el nivel de pH (potencial de hidrógeno) con NaOH o HCl 1mol/L requerido por cada medio. Finalmente, se sometieron a baño maría (Memmert) y se los llevó al autoclave (Phoenix Luferco) a 121 °C, 15 PSI por 15 minutos.

Los frascos de medio de cultivo se almacenaron en baño maría a 55°C, por otro lado, el caldo TSB fue transvasado a tubos de ensayo de 10 mL con una jeringa antes de ser llevado al autoclave, para ser almacenados a refrigeración de 2-8°C.

2.2.7 Análisis microbiológico del área

2.2.7.1 Método del hisopo

Selección de puntos de muestreo

Se tomaron en consideración 6 puntos de muestreo de superficies por cada cabina tal como se observa en la figura 1, en ambas áreas de producción de productos naturales y cosméticos del Laboratorio Neofármaco del Ecuador.

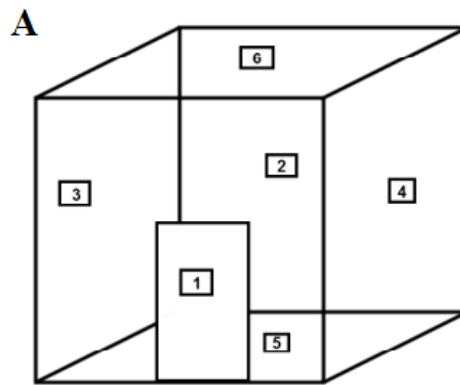


Figura 1. Ubicación de los puntos de muestreo de superficies.

Punto 1: pared donde se encuentra la puerta.

Punto 2: pared frontal a la puerta.

Punto 3: pared izquierda respecto a la puerta.

Punto 4: pared derecha respecto a la puerta.

Punto 5: piso.

Punto 6: techo.

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Esterilización de los materiales

Los hisopos y plantillas utilizados se envolvieron en papel Kraft y se colocaron con cinta indicadora de esterilización, donde se llevaron a esterilización en autoclave (Phoenix Luferco) a 121°C, a 15 PSI por 15 minutos. Así pues, se introdujeron los hisopos en cada tubo de ensayo conteniendo 10 mililitros de TSB y se sellaron para evitar contaminación del ambiente.

Procedimiento

El muestreo se realizó en un día de jornada laboral matutina. En primer lugar, se realizó el blanco con un hisopo estéril en el diluyente. Luego, para el muestreo de las diferentes superficies se colocó una plantilla (10cmx10cm) para estriar la superficie con el hisopo en forma de zig-zag inclinándolo en un ángulo de 30° dentro del cuadrado cubriendo toda la zona tal como se observa en la figura 2. Después, se eliminó la sección del hisopo manipulada para evitar contaminación y se introdujo nuevamente en la solución TSB. Finalmente, se desinfectó la superficie muestreada con alcohol al 70% para evitar crecimiento microbiano.

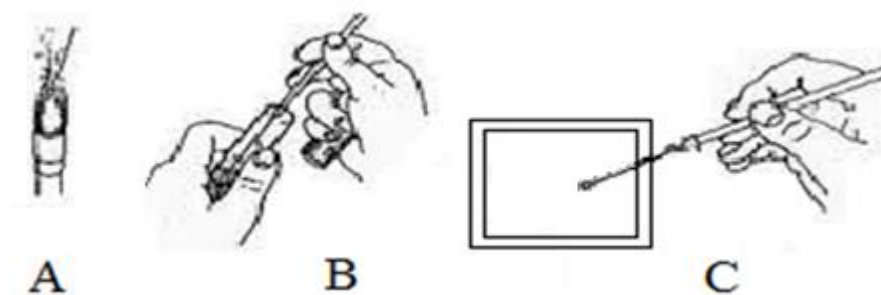


Figura 2. Método de muestreo del hisopo. (A) Se coloca el hisopo en el Caldo de cultivo. (B) Se retira el hisopo una vez sumergido. (C) Se realiza el estriado de la superficie.

Fuente: Olivas & Alarcon, (2002)

Conservación y transporte de la muestra

Las muestras se colocaron en un congelador (Cooler) con gel refrigerante distribuidas uniformemente en la base y en los laterales, de esta manera se asegura una temperatura del contenedor menor a 10°C, a fin de asegurar la vida útil de la muestra hasta su llegada al laboratorio. Se debe tomar en consideración que el tiempo de transporte de la muestra tomada y la recepción en el laboratorio no debe exceder las 24 horas.

Siembra de las muestras microbiológicas

- Extensión de superficie (*Salmonella spp*)

Se vertió no menos de 0,1 mL de la muestra mediante una micropipeta semiautomática (HandyStep) en agar XLD y se procedió a estriar por el método de extensión en superficie. A continuación, se llevó las muestras a la incubadora (Memmert).

- Vertido en placa (Aerobios totales, Mohos-levaduras)

Se vertió no menos de 1 mL de la muestra mediante una micropipeta semiautomática (HandyStep) en agar TSA (Aerobios totales) y agar SAB (Mohos-levaduras) en 15-20 mL de agar fundido a 45°C. Posteriormente, se llevó las muestras a la incubadora (Memmert).

Condiciones de incubación y recuento microbiológico

Una vez concluida con el muestreo y la siembra microbiológica para los diferentes ensayos, se procedió a incubar las cajas Petri según la tabla 12. Posteriormente, una vez incubadas en el tiempo establecido se realizó la cuantificación mediante el recuento de unidades formadoras de colonias (UFC) en cada caja.

Tabla 12. Condiciones de incubación para el muestreo microbiológico

Microorganismo	Medio de cultivo/condiciones de incubación
Aerobios Totales	Agar TSA 30-35 °C por 3-5 días
Mohos-Levaduras	Agar Sabouraud 20-25°C por 5-7 días
<i>Salomonella spp</i> (Patógenos)	Agar XLD 30-35 °C por 18-48 horas

Elaborado por: Mosquera M, (2022)

Fuente: Laboratorio Neofármaco del Ecuador

Cálculos y reporte de resultados

Para reportar los resultados del análisis de superficies de áreas, a las UFC obtenidas del recuento en placa de agar se aplicó la siguiente fórmula:

$$N = \frac{c}{(Vxd)}$$

-N: número de colonias en UFC/cm²

-V: es el volumen de la alícuota sembrada en cada placa, en mililitros

-d: es el factor de dilución correspondiente a la dilución realizada para la suspensión inicial.

-c: Es el número de colonias obtenidas a partir del recuerdo de la caja Petri.

Cuando no hubo crecimiento microbiano se aplicó la siguiente fórmula:

$$N < \frac{1}{(Vxd)}; N < \frac{1}{1 \times 10^{-1}}; N < 10$$

-V: es el volumen de la alícuota sembrada en cada placa, en mililitros

d: es el factor de dilución correspondiente a la dilución realizada para la suspensión inicial.

Una vez obtenidas los UFC/cm², se verificó que los resultados obtenidos se encuentren dentro de los límites microbianos establecidos para áreas limpias Clase D, según la tabla 13.

Tabla 13. Límites de contaminación microbiana recomendados

Ensayo Microbiológico	Criterios de aceptación Clase D
<i>Salmonella spp</i>	Ausente /100cm ²
Aerobios totales	< 200 UFC/100cm ²
Mohos-levaduras	<200 UFC/100cm ²

Nota. Recuperado de Nassani, (2004)

2.2.8 Análisis microbiológico del sistema de aire y ventilación

Se aplicaron diferentes métodos de muestreo tanto pasivo y activo, determinando el número de partículas viables en las áreas de cosméticos y productos naturales del Laboratorio Neofármaco del Ecuador. El muestreo se realizó en un día de jornada laboral matutina.

A. Muestreo activo del difusor

En primer lugar, se realizó un blanco con una placa de agar sólido, seguidamente se rotularon las placas de agar (agar TSA, agar SAB y agar XLD) y se expusieron al punto de aire y ventilación a una distancia de no menos de 5 cm por un tiempo de 2 minutos. Finalmente, se sellaron las placas con parafilm para evitar la contaminación.

B. Muestreo activo del área

En primer lugar, se realizó un blanco con una placa de agar sólido, posteriormente se rotularon las placas de agar (agar TSA, agar SAB y agar XLD). Luego, se muestreó con una caja Petri en 3 puntos diferentes para cada cabina durante 60 segundos

mediante un muestreador microbiológico de aire (Sugold) a una considerable altura de trabajo.

C. Muestreo pasivo del área

Para el muestreo pasivo se realizó un blanco con una placa de agar sólido, posteriormente se rotularon las placas de agar (agar TSA, agar SAB y agar XLD), a continuación, se expusieron por 4 horas mínimo las placas Petri sin tapa cerca de la entrada de cada cabina debido a que se considera que existe mayor contaminación ambiental.

Conservación y transporte de la muestra

Las muestras se colocaron en un congelador (Cooler) con gel refrigerante distribuidas uniformemente en la base y en los laterales, de tal manera permitió asegurar la temperatura del contenedor menor a 10°C, se tomó en consideración que el tiempo de transporte de la muestra tomada y la recepción en el laboratorio no debe exceder las 24 horas. Finalmente, las muestras se llevaron a la incubadora (Memmert).

Condiciones de incubación

Una vez concluida con el muestreo para los diferentes ensayos, se procedió a rotular e incubar las diferentes cajas Petri según la tabla 12.

Cálculo y reporte de resultados

- Cálculo y reporte de resultados para el muestreo activo

Para reportar los resultados del análisis del muestreo activo del difusor se tomó en cuenta las UFC obtenidas y los CFM. Se realizó la conversión de CFM a m³ mediante la siguiente ecuación.

$$\text{m}^3 = \frac{\text{CFM} * \text{TE}(\text{min}) * \text{F}}{1}$$

CFM: Flujo de aire en pie³ / min

TE: tiempo de exposición de la placa agar

F: Factor de conversión (0,0283 m³)

Para el cálculo del reporte en UFC/ m³ se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$\text{SAV}_A = \frac{\text{UFC}}{\text{m}^3}$$

- Muestreo activo con el equipo muestreador de aire microbiológico

Para reportar los resultados del análisis de muestreo activo con el muestreador microbiológico de aire se realizó la conversión de litros/min a m³/min y el recuento de las colonias obtenidas se dividió para las 3 repeticiones.

Se aplicaron las siguientes fórmulas:

A partir del equipo muestreador se obtuvo:

$$\text{m}^3 = \frac{100\text{L} * 1\text{m}^3}{1000\text{L}} = 0,1 \text{ m}^3$$

A partir de las UFC obtenidas se obtuvo:

$$\text{UFC} = \frac{\text{CM} * 1\text{m}^3}{0,1 \text{ m}^3}$$

CM: Conteo microbiológico (UFC)

Para el cálculo del reporte en UFC/ m³ se realizó mediante la siguiente fórmula:

$$SAV_A = \frac{UFC}{m^3}$$

Criterio de aceptación para las pruebas microbiológicas

Una vez obtenidas los resultados de UFC/m³ y UFC/horas se procedió a comparar si se encuentran dentro de los límites microbianos establecidos para áreas limpias Clase D, según la tabla 14.

Tabla 14. Límites recomendados para la contaminación microbiana para el Análisis Microbiológico del sistema de aire y ventilación

Ensayo Microbiológico	Método Muestreo Activo		Método Muestreo Pasivo (placas 90mm)	
	Criterios de aceptación			
	Área clase A	Área clase D	Área clase A	Área clase D
Aerobios totales	< 1UFC / m³	< 200 UFC / m³	< 1 UFC / 4 Horas	< 100 UFC / 4 Horas
Mohos-levaduras	< 1UFC / m³	< 200 UFC / m³	< 1 UFC / 4 Horas	< 100 UFC / 4 Horas
Salmonella spp (Patógenos)	Ausente / 100m³	Ausente / 100m³	Ausente / 4 Horas	Ausente / 4 Horas

Recuperado de: OMS, (2012)

Nota. UFC unidad formadora de colonias

CAPITULO III

3.1 Análisis y Discusión de resultados

La normativa ISO 14644-1 establece los estándares para el nivel o grado de contaminación por partículas no-viables, basado en la cantidad máxima permitida de partículas por unidad de volumen específico establecido de una sala limpia. En cuanto a la medición de partículas, se realizó mediante un instrumento óptico o de dispersión de luz, para el conteo y el control de la concentración de las partículas contenidas en el aire de la sala limpia (**Aghamiri et al., 2021**).

El requisito reglamentario establece el conteo de 3 tamaños de partículas, el primero es de 0,5 μm que se acerca al de un microorganismo, en cambio 1 y 5 μm se acercan más al tamaño de las células de la piel que pueden ser transportadores de microorganismos (**Sandle, 2016**).

En referencia a las pruebas realizadas de medición de partículas, se realizó dicho ensayo por 5 días de jornada laboral tal como se observa en las tablas 15 y 16 correspondiente a las áreas de cosméticos y naturales respectivamente, donde se observa que el promedio de la concentración de partículas para los 3 tamaños medidos en ambas áreas, cumplen y se encuentran dentro de lo establecido por la **ISO, (2016)** y la **OMS, (2012)** para la clasificación de salas limpias ISO-8/Grado-D

Los resultados del conteo de partículas mencionados, son corroborados por **Padilla, (2018)** donde realizó una calificación a un sistema de aire y ventilación (HVAC) de un Laboratorio Farmacéutico, similar a las áreas de producción de Neofármaco del Ecuador, cumpliendo con los estándares establecidos por la ISO 14644-1 y la OMS para una clasificación grado-D/ISO-8. De igual manera, cumple los límites establecidos por **Watson & Cogan, (2019)** para número máximo de partículas por metro cúbico igual o superior al tamaño indicado.

Cabe mencionar, que para alcanzar el grado de aire deseado para la sala limpia de grado D/ISO 8 o superior, debe contar con un sistema de aire y ventilación que garantice renovaciones de aire adecuadas de acuerdo con las dimensiones de la sala, equipos y personal presente. Sin duda alguna, dicho sistema debe filtrar el aire proveniente del exterior para proporcionar y garantizar que la sala limpia cumpla con las condiciones requeridas, para ello emplean filtros HEPA (High Efficiency Particulate Air) que están constituido de muchas capas de papel filtrante, evitando así que las partículas pasen a través del filtro y se adhieran a éstas **(Galvez et al., 2011; Sandle, 2015)**.

En cuanto al promedio del contenido de partículas medido en cada localización de ambas áreas, según las figuras 3 y 4, se observa que los pasillos presentan un mayor contenido de partículas del tamaño de $0,5\ \mu\text{m}$ en comparación a las cabinas, en el caso del área de productos naturales tiene un promedio de $368676.57\ \text{partículas}/\text{m}^3$, en cambio en el área de cosméticos tiene un promedio más elevado de $389702.20\ \text{partículas}/\text{m}^3$, sin embargo, ambas se encuentran óptimas y muy por debajo del límite máximo establecido de $3520000\ \text{partículas por metro cúbico}$, esto quiere decir que ambas áreas cumplen con lo dispuesto en la ISO 14644-1 (Clasificación de la limpieza del aire por concentración de partículas).

Existen diferentes fuentes de contaminación de partículas; 1) la instalación puede aumentar la concentración de partículas contaminantes a través de pisos, techos y paredes debido a los revestimientos como la pintura y otros materiales de construcción como yeso, entre otros; 2) los equipos dentro de la sala limpia provocan la liberación de partículas debido a la fricción y el desgaste, emitiendo contaminantes; 3) una fuente común de contaminantes es el personal que trabaja y se desplaza en las diferentes salas limpias, debido a que desprenden partículas, tanto de la piel, cabello y saliva 4) y finalmente el producto terminado como los ungüentos al envasarlos pueden generar una alta concentración de partículas debido a que desprenden vapores **(Aghamiri et al., 2021; Allied Cleanrooms, 2020)**.

Un estudio de capacidad es clave para demostrar que un proceso cumple de manera consistente con los requerimientos establecidos. Por lo tanto, la capacidad de proceso se encarga de determinar si dicho rendimiento está bajo control. Para ello dicho control, a pesar de las variaciones naturales debe encontrarse dentro de un Límite Inferior de Especificación (LIE) y un Limite Superior de Especificación (LSE) **(Gonzales, 2016; Pulido & De la Vara Salazar, 2013)**. En el caso del conteo de partículas, Neofármaco del Ecuador establece para sus áreas de producción de cosméticos y productos naturales para cada tamaño de partícula (0,5 μm 1 μm y 5 μm) los límites superiores de especificación (LSE) de 3520000, 832000 y 29300 partículas respectivamente y como límite inferior de especificación (LIE) de 0 partículas.

Es importante destacar que el índice de capacidad de proceso, (C_p) permite medir la dispersión o rendimiento del proceso en relación con los límites de especificación dispuestos. Así pues, un $C_p > 1,33$ significa una variabilidad adecuada cumpliendo con las especificaciones establecidas o esperadas. Al contrario, un $C_p < 1,33$ evidencia que el proceso no es capaz de cumplir con las especificaciones produciendo unidades defectuosas **(Gonzales, 2016; Pedrera & Portofilipe, 2015; Pulido & Salazar, 2013)**.

Los resultados de C_p obtenidos para ambas áreas presentaron valores mayores a 1.33 tal como se observa en las figuras 7, 9, 11, 13, 15 y 17 (anexos) para los diferentes tamaños de partículas. Además, los diferentes gráficos de tolerancia obtenidos según las figuras 8, 10, 12, 14, 16 y 18 (anexos) demuestran que ambas áreas producen valores dentro de las especificaciones establecidas para el tamaño de partículas pesar de las variaciones existentes que presentan sus observaciones.

Tabla 15. Resumen de conteaje de las partículas contenidas en el aire Área de Cosméticos

Ubicación		Partículas/m ³			Resultado
		Tamaño de partículas			
		0,5 µm	1 µm	5 µm	
CABINA 1	Promedio	380093,73	54726,83	4556,07	Cumple
	Desv. Estándar	221853,75	28893,92	3983,05	
	Máximo	767573	106676	16955	
	Mínimo	76086	19780	706	
CABINA 2	Promedio	310091,27	42163,63	4320,67	Cumple
	Desv. Estándar	121822,20	27334,97	4803,74	
	Máximo	487560	118332	19074	
	Mínimo	109501	9537	353	
CABINA 3	Promedio	320981,50	44389,10	3378,77	Cumple
	Desv. Estándar	158901,11	26330,81	2959,32	
	Máximo	651006	89367	10596	
	Mínimo	122218	18014	706	
PASILLOS	Promedio	389702,20	59650,86	4679,72	Cumple
	Desv. estándar	351976,00	59426,46	4385,71	
	Máximo	1978099	318968	17308	
	Mínimo	76086	9537	353	

Nota: Micrómetros (µm), Desviación estándar (Desv. estándar)

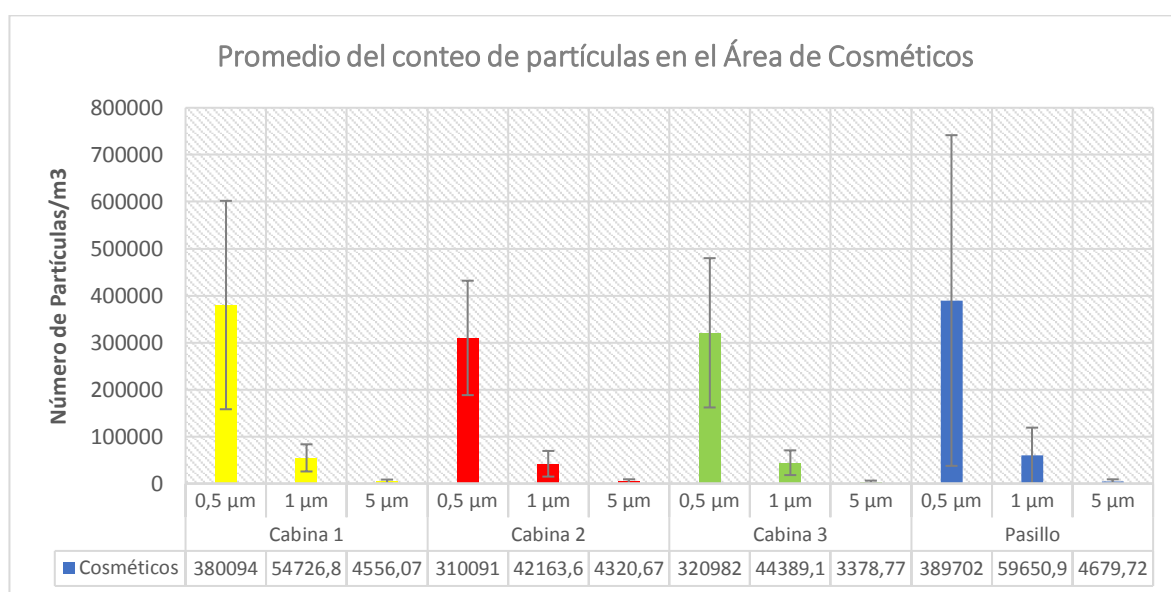


Figura 3. Gráfico de barras del promedio de concentración de partículas en las diferentes salas del Área de Cosméticos

Tabla 16. Resumen de conteaje de las partículas contenidas en el aire Área de Naturales

Ubicación		Partículas/m ³			Resultado
		Tamaño de partículas			
		0,5 µm	1 µm	5 µm	
Cabina 1	Promedio	259339,85	44753,95	2719,25	Cumple
	Desviación estándar	189009,97	28243,99	1733,88	
	Máximo	667608	109501	7412	
	Mínimo	69181	10596	0	
Cabina 2	Promedio	286199,90	57859,33	5627,57	Cumple
	Desviación estándar	99573,47	71850,97	5211,37	
	Máximo	408336	428470	20134	
	Mínimo	104556	21547	706	
Cabina 3	Promedio	240515,17	42399,10	5545,33	Cumple
	Desviación estándar	66853,19	17837,91	5436,92	
	Máximo	351819	93606	20134	
	Mínimo	105616	18368	0	
Cabina 4	Promedio	350176,07	68685,52	8503,52	Cumple
	Desviación estándar	195735,98	32638,51	6923,02	
	Máximo	814906	146944	26139	
	Mínimo	153302	15188	1059	
Área de pesaje	Promedio	359742,80	79464,87	7535,17	Cumple
	Desviación estándar	142336,98	76457,89	6704,20	
	Máximo	590250	279406	24019	
	Mínimo	112327	21547	353	
Pasillos	Promedio	368676,57	80133,30	6631,32	Cumple
	Desviación estándar	284616,45	112810,42	4557,71	
	Máximo	1270575	752238	20840	
	Mínimo	130342	20840	353	

Nota: Micrómetros (µm)

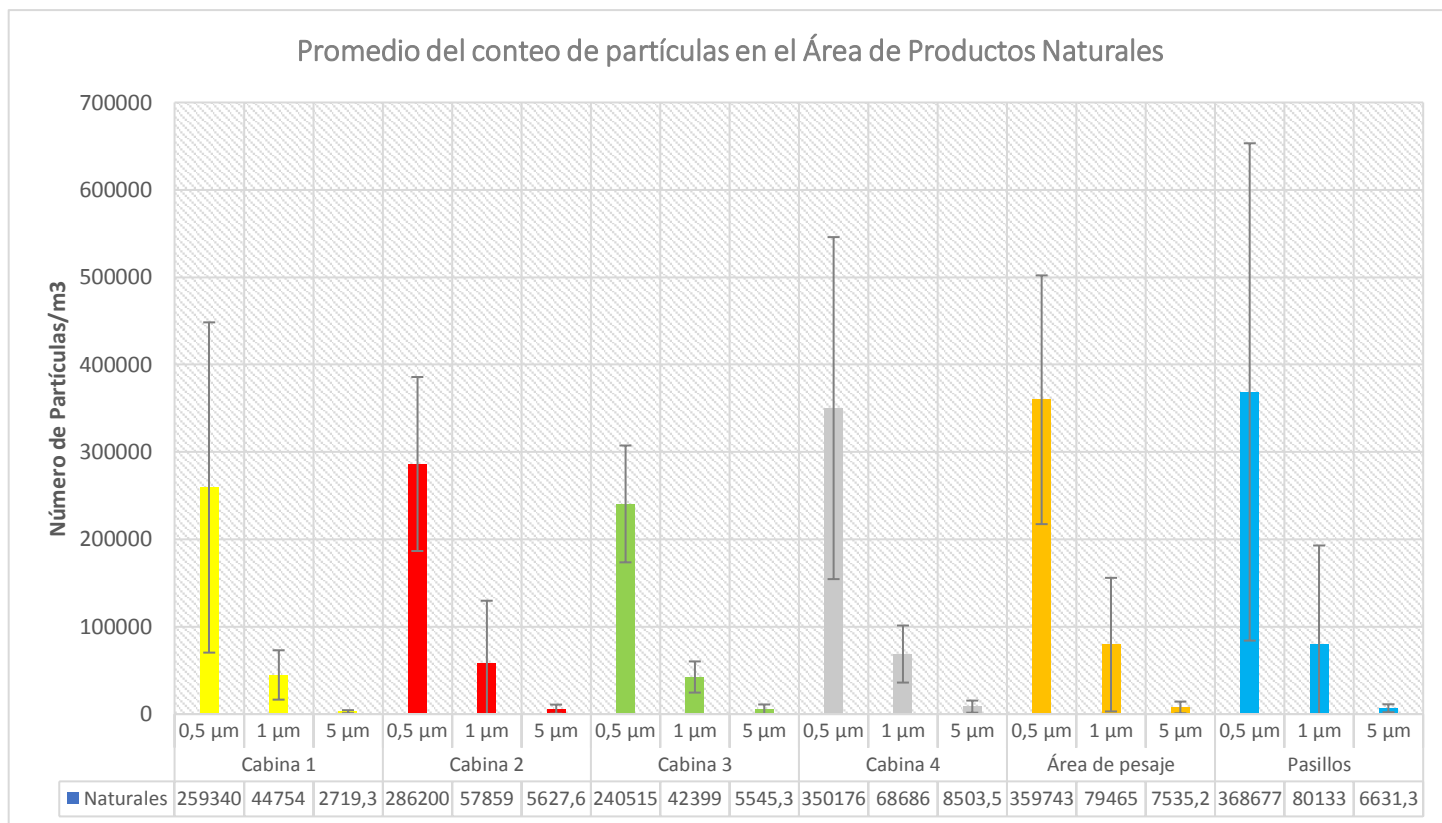


Figura 4. Gráfico de barras del promedio de concentración de partículas en las diferentes locaciones del Área de Naturales

Las salas limpias para la fabricación de productos farmacéuticos no estériles requieren un control de temperatura y humedad con tolerancias estrictas, para mantener y evitar la proliferación de microorganismos, debido a que temperaturas muy elevadas favorecen el crecimiento microbiano, incluso una temperatura superior a los 35°C es óptima para el crecimiento de la mayoría de patógenos **(Cervantes et al., 2017)**.

Así mismo, es fundamental mantener una humedad relativa adecuada, debido a que puede comprometer la eficiencia y potencia del principio activo de los medicamentos en producción causando toxicidad o degradación. Además, no se recomienda una humedad mayor al 60% en salas limpias puesto que favorece el crecimiento de microorganismos **(Hanna Instruments, 2020; Mugoyela & Mwambete, 2010)**.

En referencia a los resultados obtenidos de temperatura y humedad, tal como se observa en las tablas 17 y 18 para las áreas de producción de cosméticos y productos naturales respectivamente, el promedio de temperatura (< 30°C) y humedad (< 70%) se encuentran dentro del límite establecido.

Se puede observar en las figuras 5 y 6 de dichas áreas, que presentan promedios de temperatura muy por debajo de 30°C, de igual forma los promedios de humedad no sobrepasan el 60% en las diferentes zonas de ambas áreas. Demostrando que el sistema de aire y ventilación de ambas áreas (Cosméticos y Productos Naturales) es capaz de mantener los niveles de humedad y temperatura del aire dentro del rango establecido para la fabricación de productos farmacéuticos no estériles.

Tabla 17. Resumen de temperatura y humedad en el Área de Cosméticos

Área		Temperatura (°C)				Humedad (HR%)				Cumple SI/NO
		R1	R2	R3	Prom.	R1	R2	R3	Prom.	
Cabina 1	Desv. estándar	19,95	21,50	21,82	21,09	53,27	48,82	47,36	49,82	SI
	Mínimo	1,67	1,02	1,42		3,48	3,40	2,1		
	Máximo	18	20	20		45	42	41		
		25	23	25		59	58	53		
Cabina 2	Desv. estándar	19,14	19,95	20,95	20,01	44,55	46,77	43,91	45,08	SI
	Mínimo	1,10	1,18	1,52		3,76	2,85	2,68		
	Máximo	17	18	19		39	42	40		
		21	22	23		50	51	48		
Cabina 3	Desv. estándar	22,45	22,86	22,18	22,50	49,73	46,00	44,77	46,83	SI
	Mínimo	2,32	1,30	1,57		3,07	2,69	2,39		
	Máximo	18	20	20		44	42	41		
		26	25	25		57	50	49		

Nota: Promedio (Prom), Desviación estándar (Desv. estándar). R(Repetición).

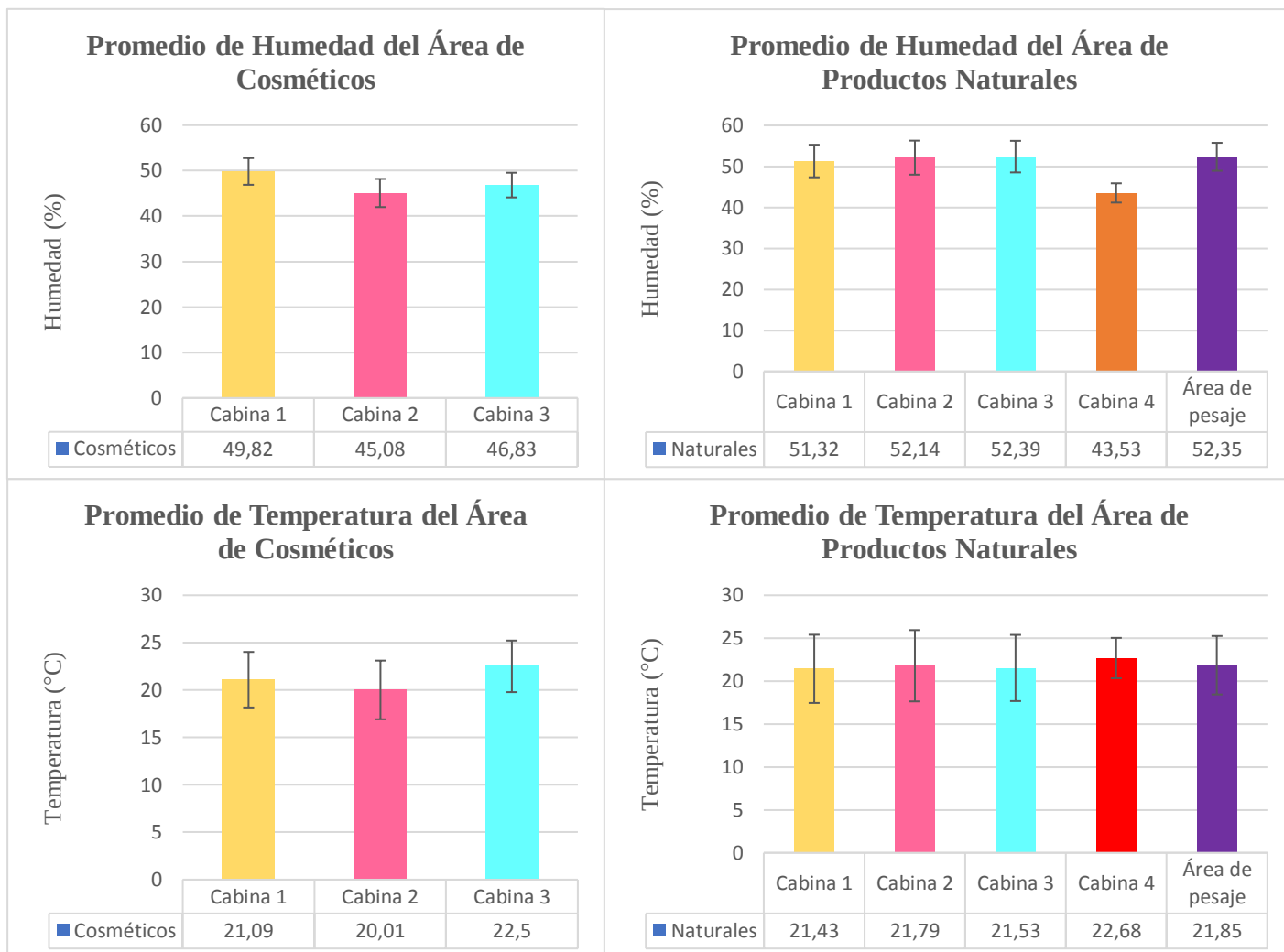


Figura 5. Gráficos de barras del promedio de temperatura y humedad de las diferentes salas del Área de Cosméticos y Productos Naturales

Los resultados de temperatura y humedad son corroborados por **Paredes, (2020)** donde calificó un área clase-D y destaca la importancia de controlar la temperatura y humedad en la industria farmacéutica, debido a que influye en la calidad del producto terminado. De igual manera, se basa en las normas de la OMS y en otras instituciones donde especifican que una área Clase-D debe mantener una temperatura no mayor a 30°C y una humedad relativa menor al 80% (**OMS, 2019, 2011**). Por lo tanto, las áreas de fabricación de cosméticos y productos naturales cumplen las especificaciones requeridas para la producción de fármacos no estériles.

Tabla 18. Resumen de temperatura y humedad en el Área de Naturales

Área		Temperatura (°C)				Humedad (HR%)				Cumple SI/NO
		R1	R2	R3	Prom.	R1	R2	R3	Prom.	
Cabina 1		21,08	21,61	21,61	21,43	51,95	51,59	50,41	51,32	SI
	Desv. estándar	0,854	1,021	0,906		3,77	4,658	3,489		
	Mínimo	19,00	20,00	20,00		44,00	44,00	44,00		
	Máximo	22,90	23,50	23,10		57,00	57,00	56,00		
Cabina 2		21,40	21,66	22,32	21,79	53,00	53,27	50,14	52,14	SI
	Desv. estándar	0,864	0,829	1,158		4,293	4,407	3,756		
	Mínimo	20,10	20,20	20,10		44,00	45,00	45,00		
	Máximo	23,10	23,10	24,50		58,00	60,00	57,00		
Cabina 3		20,95	21,55	22,10	21,53	51,59	51,77	53,82	52,39	SI
	Desv. estándar	0,677	0,904	1,108		4,491	4,262	2,813		
	Mínimo	19,50	20,00	20,10		44,00	45,00	49,00		
	Máximo	22,10	23,30	24,00		58,00	58,00	59,00		
Cabina 4		22,07	22,48	23,50	22,68	45,23	44,77	40,59	43,53	SI
	Desv. estándar	0,941	0,812	1,042		2,839	4,149	1,818		
	Mínimo	20,10	21,10	20,90		40,00	35,00	38,00		
	Máximo	24,00	24,20	25,20		49,00	51,00	45,00		
Área de pesaje		21,73	21,78	22,05	21,85	52,41	51,36	53,27	52,35	SI
	Desv. estándar	1,019	0,925	0,852		3,283	3,426	3,507		
	Mínimo	19,90	19,90	20,60		47,00	46,00	48,00		
	Máximo	23,40	23,60	24,10		59,00	57,00	59,00		

Nota. Promedio (Prom), Desviación estándar (Desv. estándar). R(Repetición).

En referencia a los valores de Cp obtenidos para la temperatura y humedad relativa, según las figuras 19, 21, 23 y 25 en anexos para las áreas de Cosméticos y Naturales, todas presentan un $C_p > 1,33$ demostrando así que a pesar de las variabilidades naturales que presenta el proceso es más que adecuado y se encuentra dentro de las especificaciones establecidas. Además, los gráficos de tolerancia según las figuras 20, 22, 24 y 26 en anexos se evidencia que las observaciones con sus respectivas variaciones se encuentran dentro del LIE y del LSE.

La velocidad de aire que suministra un sistema de aire y ventilación es un aspecto clave para mantener asepsia en salas limpias. Además, ésta debe estar diseñada para eliminar partículas contaminantes del ambiente, evitando su asentamiento en las diferentes superficies. Por otra parte, los patrones de distribución de aire deben ser efectivos y apropiados. Otro aspecto físico a considerar en el sistema de aire y ventilación, son las tasas de cambio de aire que puede proporcionar, debido a que mantienen el control del área limpia mediante cambios de aire, diluyendo así cualquier contaminación producida por una elevada concentración de partículas a una concentración aceptable (**Sandle, 2016; OMS, 2017**).

En cuanto a los resultados obtenidos de velocidad o flujo de aire para el suministro y extracción del sistema de aire y ventilación de las áreas de cosméticos y naturales, según las tablas 19, 20, 21 y 22 se observa que ambas áreas se encuentran dentro del límite de coeficiente de variación $< 5\%$ RSD que establece el Laboratorio Neofármaco. Adicionalmente, cumplen según lo establecido por **Tim Sandle, (2016)** con una velocidad de aire de 0,45 m/s para suministro y extracción.

En referencia a los resultados de las tasas de cambios de aire según las tablas 23 y 24 para las áreas de cosméticos y naturales respectivamente, se observa que ambas áreas cumple según la **OMS, (2011)** donde establece que los cambios de aire/hora deben ser mayor a 20. Así mismo, los resultados anteriormente mencionados son corroborados por **Paredes, (2020)** y **Tim Sandle, (2016)** donde del mismo modo establecen que las renovaciones de aire para áreas grado-D requiere un mínimo de 20 cambios por hora.

Tabla 19. Resumen de la uniformidad de velocidad del suministro de aire del área de Cosméticos

Ubicación	Ext. de aire	Velocidad: m/s				Desv. estándar	RSD (<5%)	Cumple SI/NO
		R1	R2	R3	Prom.			
Cabina 1	EXTC1	2,08	2,08	2,06	2,07	0,01	0,56	SI
	EXTC2	2,42	2,38	2,40	2,40	0,02	0,83	SI
	EXTC3	1,98	1,96	2,00	1,98	0,02	1,01	SI
Cabina 2	EXTC4	2,08	2,10	2,14	2,11	0,03	1,45	SI
	EXTC5	2,02	2,06	2,02	2,03	0,02	1,14	SI
Cabina 3	EXTC8	3,04	3,08	3,02	3,05	0,03	1,00	SI
	EXTC9	2,58	2,58	2,58	2,58	0,00	0,00	SI
	EXTC10	1,74	1,74	1,70	1,73	0,02	1,34	SI
Área de lavado	EXTC6	2,02	2,02	2,00	2,01	0,01	0,57	SI
	EXTC7	2,00	1,98	2,02	2,00	0,02	1,00	SI

Nota. Extracción de aire (Ext. de aire). R(Repetición).

Tabla 20. Resumen de la uniformidad de velocidad de extracción de aire del área de Cosméticos

Ubicación	Sum. de aire	Velocidad: m/s				Desviación estándar	RSD (<5%)	Cumple SI/NO
		R1	R2	R3	Prom.			
Cabina 1	SC1	2,02	2,06	2,0	2,03	0,03	1,51	SI
	SC2	3,06	3,10	3,08	3,08	0,02	0,65	SI
	SC3	2,00	2,00	2,00	2,00	0,00	0,00	SI
	SC4	1,46	1,52	1,50	1,49	0,03	2,05	SI
Pasillo	SC5	1,52	1,50	1,52	1,51	0,01	0,76	SI
	SC6	1,46	1,42	1,42	1,43	0,02	1,61	SI
	SC9	2,00	2,00	2,02	2,01	0,01	0,58	SI
Cabina 2	SC7	2,10	2,14	2,16	2,13	0,03	1,43	SI
	SC8	2,38	2,38	2,40	2,33	0,01	0,50	SI
Cabina 3	SC10	1,62	1,64	1,68	1,65	0,03	1,86	SI
	SC11	1,96	1,98	1,92	1,95	0,03	1,56	SI
	SC12	2,22	2,22	2,20	2,21	0,01	0,52	SI
	SC13	1,90	1,92	1,88	1,90	0,02	1,05	SI

Nota: Suministro de aire (Sum. de aire). R(Repetición).

Tabla 21. Resumen de la uniformidad de velocidad del suministro de aire del área de Naturales

Ubicación	Sum. de aire	Velocidad: m/s				Desv. estándar	RSD (<5%)	Cumple SI/NO
		R1	R2	R3	Prom.			
Cabina 1	SM9	1,46	1,52	1,48	1,49	0,03	2,05	SI
Cabina 2	SM10	1,34	1,38	1,38	1,37	0,02	1,69	SI
Cabina 3	SM11	2,18	2,18	2,20	2,19	0,01	0,53	SI
	SM12	2,30	2,36	2,32	2,33	0,03	1,31	
Cabina 4	SM1	2,36	2,36	2,38	2,37	0,01	0,49	SI
	SM2	2,38	2,34	2,38	2,37	0,02	0,98	
	SM3	2,38	2,40	2,36	2,38	0,02	0,84	
	SM4	2,14	2,14	2,18	2,15	0,02	1,07	
	SM5	2,48	2,46	2,48	2,47	0,01	0,47	
	SM6	2,54	2,56	2,52	2,54	0,02	0,79	
	SM7	2,32	2,38	2,40	2,37	0,04	1,76	
	SM8	2,30	2,30	2,34	2,31	0,02	1,00	
Área de pesaje	SM13	3,24	3,20	3,24	3,23	0,02	0,72	SI
	SM14	1,62	1,68	1,70	1,67	0,04	2,50	
Pasillo	SM15	3,06	3,08	3,08	3,07	0,01	0,38	SI
	SM16	2,60	2,64	2,66	2,63	0,03	1,16	

Nota: Suministro de aire (Sum. de aire). R(Repetición).

Es fundamental monitorear la presurización de las salas limpias en un entorno de fabricación, para garantizar que el aire contaminado no ingrese en el interior de la sala limpia y verificar que la sala blanca mantiene una presión diferencial adecuada con salas adyacentes (**Welker, 2010**).

Es importante resaltar que los resultados de varios estudios publicados para el monitoreo ambiental de salas limpias y los análisis microbiológicos, desarrollados por varias instituciones, tanto para los métodos de muestreo microbiológicos activos y pasivos es limitada, escasa y confidencial en ciertos casos. Por lo tanto, es muy complejo realizar una comparación bibliográfica de la calidad microbiológica en salas limpias (**Utescher et al., 2007**).

Tabla 22. Resumen de la uniformidad de velocidad de extracción de aire del área de Naturales

Ubicación	Ext. de aire	Velocidad: m/s				Desv. estándar	RDS	Cumple SI/NO
		R1	R2	R3	Prom.			
Cabina 1	EXT11	3,40	3,46	3,46	3,44	0,03	2,63	SI
Cabina 2	EXT12	2,36	2,44	2,46	2,42	0,05	2,66	SI
Cabina 3	EXT13	2,24	2,22	2,20	2,22	0,02	2,28	SI
Cabina 4	EXT1	1,72	1,76	1,74	1,74	0,02	0,00	SI
	EXT2	3,16	3,30	3,18	3,21	0,08	3,65	
	EXT3	2,38	2,38	2,36	2,37	0,01	2,66	
	EXT4	1,90	1,90	1,90	1,90	0,00	0,00	
	EXT5	4,08	4,16	4,16	4,13	0,05	1,12	
	EXT6	2,72	2,74	2,74	2,73	0,01	0,42	
	EXT7	2,42	2,44	2,44	2,43	0,06	0,47	
	EXT8	3,36	3,42	3,36	3,38	0,03	1,02	
Área de pesaje	EXT14	2,44	2,48	2,46	2,46	0,02	0,81	SI
Área de lavado	EXT9	1,76	1,80	1,76	1,77	0,02	1,30	SI
	EXT10	2,34	2,36	2,34	2,35	0,01	0,49	

Nota. Extracción de aire (Ext. de aire). R(Repetición).

Tabla 23. Resumen de las renovaciones de aire en el Área de Cosméticos

Ubicación	Volumen (Pie ³)	Sum. de aire	Caudal CFM: Pie ³ / min				Cambios de aire/ hora suministro	Cambios de aire/ hora cabina	Cumple SI/NO
			R1	R2	R3	Prom.			
Cabina 1	3779,81	SC1	353,8	358,6	355,6	356,00	5,65	23,13	SI
		SC2	376,0	377,8	375,4	376,40	5,97		
		SC3	321,4	324,4	325,4	323,73	5,14		
		SC4	404,0	398,8	400,6	401,13	6,37		
Pasillo	2030,98	SC5	240,2	244,8	243,0	242,67	7,17	21,72	SI
		SC6	235,6	236,2	235,4	235,73	6,96		
		SC9	255,0	256,6	259,2	256,93	7,59		
Cabina 2	1884,48	SC7	324,2	324,0	328,6	325,60	10,37	21,73	SI
		SC8	354,6	357,6	358,6	356,93	11,36		
Cabina 3	4219,55	SC10	420,4	422,8	423,0	422,07	6,00	24,88	SI
		SC11	479,2	478,6	481,4	479,7	6,82		
		SC12	435,0	435,2	435,4	435,2	6,19		
		SC13	411,8	411,2	414,8	412,6	5,87		

Nota: Suministro de aire (Sum. de aire). R(Repetición).

Tabla 24. Resumen de las renovaciones de aire en el Área de Naturales

Ubicación	Volumen (Pie ³)	Sum. de aire	Caudal CFM: Pie ³ / min				Cambios de aire/ hora suministro	Cambios de aire/ hora cabina	Cumple SI/NO
			R1	R2	R3	Prom.			
Cabina 1	732,350	SM9	271,80	272,40	271,40	271,87	22,27	22,27	SI
Cabina 2	1275,67	SM10	442,00	441,00	438,40	440,47	20,70	20,72	SI
Cabina 3	1276,94	SM11	229,00	232,6	228,8	230,13	10,81	22,00	SI
		SM12	237,00	238,6	238,8	238,13	11,19		
Cabina 4	10057,62	SM1	449,4	453,2	453,0	451,87	2,70	21,98	SI
		SM2	487,6	489,2	489,4	488,73	2,92		
		SM3	475,2	474,4	474,6	474,73	2,83		
		SM4	438,8	440,4	441,4	440,20	2,63		
		SM5	541,8	521,4	525,2	529,47	3,16		
		SM6	430,00	432,6	433,8	432,13	2,58		
		SM7	440,8	438,2	441,8	440,27	2,63		
		SM8	432,8	413,6	434,6	427,00	2,55		
Área de pesaje	1195,01	SM13	242,8	242,4	248,2	244,47	12,27	23,86	SI
		M14	230,6	231,0	230,4	230,67	11,58		
Pasillo	1769,65	SM15	342,0	345,0	343,4	343,47	11,65	25,21	SI
		SM16	401,4	399,8	399,4	400,02	13,56		

Nota: Suministro de aire (Sum. de aire), Promedio (Prom.), R(Repetición).

Los resultados de presión diferencial establecido por la **OMS, (2019)** se encuentran dentro del rango establecido (5-20 Pascales) para ambas áreas tal como se observa en las tablas 25 y 26. De manera similar se puede comparar con los resultados de **Padilla, (2018)** en la calificación de un sistema de aire y ventilación estableciendo los límites mencionados para salas grado-D. En definitiva, esto demuestra que el sistema de aire y ventilación de las áreas de cosméticos y productos naturales tienen la capacidad de mantener la presión diferencial especificada, asegurando la inocuidad en la fabricación de productos farmacéuticos no estériles.

Tabla 25. Resumen de datos de presión diferencial del Área de Cosméticos

Área de Cosméticos					
Presión Diferencial (Pa)					
		R1	R2	R3	Promedio Cumple Si/No
Cabina 1		14,55	11,91	9,41	11,95 Si
Cabina 2	1	14,55	11,77	7,91	11,41 Si
Cabina 3	1	15,00	11,1	8,14	11,68 Si

Nota: R (Repetición), Pa (Pascales).

Tabla 26. Resumen de datos de presión diferencial del Área de Naturales

Área de Naturales					
Presión Diferencial (Pa)					
		R1	R2	R3	Promedio Cumple Si/No
Cabina 1		11,82	11,55	11,18	11,52 Si
Cabina 2		8,64	8,64	8,64	8,64 Si
Cabina 3		14,82	14,73	14,73	14,76 Si
Cabina 4		9,68	9,95	9,68	9,77 Si
Área de pesaje		15,00	14,77	14,73	14,83 Si

Nota: R (Repetición), Pa (Pascales).

Por lo tanto, para garantizar y mantener la integridad de las salas limpias requiere de mucho esfuerzo, pues existen 3 fuentes principales de contaminación tales como: 1) errores humanos, 2) superficies del área de la habitación y finalmente 3) aire del exterior que puede ingresar a la sala, la misma que al no ser inocua y controlada pueden ocasionar una proliferación de microbios aerobios, causando así contaminación hacia las distintas áreas y a los distintos procesos de manufactura en producción (Wu & Liu, 2007).

Es fundamental tomar muestras microbiológicas en las salas limpias para determinar y garantizar que las concentraciones de contaminación microbiana, tanto en las

superficies como en el aire se encuentran dentro de los estándares establecidos (**Whyte, 2005**). Además, la normativa ISO 14644-1 e ISO 14698-1 no establecen límites ni asignan valores de clasificación para partículas viables en superficies. Por lo cual, los niveles de contaminación microbiana deben ser determinados por el usuario (**Salaman, 2018**). De este modo, Laboratorio Neofármaco del Ecuador establece un límite de $< 200 \text{ UFC}/100\text{cm}^2$ para aerobios totales y mohos-levaduras, con ausencia de patógenos para el análisis microbiológico de superficies (método el hisopo).

En cuanto al método del hisopado, se emplea un hisopo humedecido, para posteriormente frotar en un espacio determinado y colocarlo en el diluyente con el fin liberar los microorganismos existentes en un medio sólido (**Pérez & Sánchez, 2010**). Los resultados obtenidos para dicho método se observan en las tablas 27 y 28, el cual consistió en diferentes muestreos microbiológicos, evidenciando un crecimiento de aerobios totales y mohos-levaduras dentro del rango establecido $< 200 \text{ UFC}/100\text{cm}^2$ sin presencia de *Salmonella spp* y cumpliendo lo establecido por **Nassani, (2004)** en referencia a los criterios de aceptación de “Validación de Limpieza en la Industria Farmacéutica”.

En referencia a los resultados del hisopado anteriormente mencionados, son corroborados por **Sandle, (2014)** quien realizó un estudio microbiológico para salas blancas farmacéuticas; donde se tomaron muestras de una sala limpia de clasificación ISO-8/grado-D y se evidenció que la carga microbiológica se encuentra dentro de los límites establecidos. Así, los resultados de los diferentes muestreos microbiológicos aplicados, tales como el método del hisopo, muestreo pasivo, activo del área y del difusor, para las áreas de Cosméticos y Naturales, se encuentran dentro del rango establecido según el estudio realizado por **Mohamad et al., (2011)** aplicado en un entorno de la instalación farmacéutica grado-D, donde cumple con los límites establecidos para el método del hisopado ($< 50 \text{ UFC}/\text{placa}$), para el muestreo pasivo con placas de sedimentación ($< 100 \text{ UFC}/4 \text{ horas}$) y finalmente para el muestreo activo del área y difusor ($< 200 \text{ CFU}/\text{m}^3$).

Dado que la técnica del hisopado utilizada para el muestreo es muy difícil de estandarizar, debido a la técnica de muestreo, sin embargo, **Whyte, (2005)** realizó un estudio para determinar la eficiencia de recolección de los métodos de muestreo de superficie, donde se determinó una eficiencia de recolección de alrededor del 60 %. Por lo tanto, el método de muestreo de siembra de superficie con hisopo brinda los resultados aplicables debido a que imita la manera en que los microorganismos se encuentran naturalmente en las superficies y paredes de las salas limpias.

Tabla 27. Resumen del Análisis microbiológico del área (Método del Hisopo) en el Área de Cosméticos

Ubicación	Punto de muestreo	Resultados (UFC/ 100 cm ²)			Cumplimiento
		Aerobios totales	Mohos- levaduras	Patógenos (<i>Salmonella spp</i>)	
Cabina 1	Pared frontal (2)	10	10	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	20	10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	< 10	20	Ausente	Cumple
	Techo (6)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Piso (5)	< 10	10	Ausente	Cumple
Cabina 2	Techo (6)	< 10	30	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Frontal (2)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Piso (5)	< 10	20	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
Cabina 3	Techo (6)	10	10	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Frontal (2)	10	< 10	Ausente	Cumple
	Piso (5)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	10	10	Ausente	Cumple

Tabla 28. Resumen del Análisis microbiológico del área (Método del Hisopo) en el Área de Naturales

Ubicación	Punto de muestreo	Resultados (UFC/ 100 cm ²)			Cumplimiento
		Aerobios totales	Mohos-levaduras	Patógenos (<i>Salmonella spp</i>)	
Cabina 1	Piso (5)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared frontal (2)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Techo (6)	10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	10	< 10	Ausente	Cumple
Cabina 2	Techo (6)	20	60	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	10	10	Ausente	Cumple
	Pared Frontal (2)	10	< 10	Ausente	Cumple
	Piso (5)	20	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
Cabina 3	Techo (6)	< 10	10	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	20	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Frontal (2)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Piso (5)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	< 10	10	Ausente	Cumple
Cabina 4	Piso (5)	70	150	Ausente	Cumple
	Pared Derecha (4)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Izquierda (3)	10	10	Ausente	Cumple
	Pared frontal (2)	10	< 10	Ausente	Cumple
	Techo (6)	< 10	< 10	Ausente	Cumple
	Pared Puerta (1)	< 10	< 10	Ausente	Cumple

La normativa de la **United States Pharmacopeial, (2013)** en el capítulo <1116> establece que se debe realizar al menos una prueba para la identificación de patógenos en áreas no estériles. Por lo tanto, se evaluó la presencia de *Salmonella spp.* en las salas limpias, debido a que es una causa principal de enfermedades, morbilidad, mortalidad y pérdidas económicas en la industria farmacéutica (**Hald, 2013**). De la misma forma **Kanegsberg & Kanegsberg (2011)** advierte que no debe ingresar *Salmonella spp* al ambiente de una sala limpia, debido a que puede producir

endotoxinas que son difícil de eliminar mediante técnicas de esterilización. Además, dicho organismo podría comprometer muy seriamente la salud de un paciente y provocar incluso la muerte. En definitiva, los resultados obtenidos del muestreo microbiológico de áreas y del sistema de aire y ventilación para ambas áreas de producción, no presentaron crecimiento de *Salmonella spp.*

.

En particular, la medición pasiva de microorganismos permite predecir la tasa de contaminación en el área en conjunto con el número microorganismos que se asientan en las superficies. Al contrario, se emplea el método activo con el fin de obtener información sobre la concentración de las partículas viables inhalables contenidas en la sala limpia (**Napoli et al., 2012**). Así mismo, **Utescher et al., (2007)** menciona que el contenido microbiológico de aire pasivo y activo proporciona información para la evaluación y control de la calidad del aire en busca de partículas viables en el sistema de aire y ventilación en áreas.

Los resultados microbiológicos obtenidos para ambas áreas, en el caso del muestreo activo del difusor según las tablas 30 y 31, y en el caso del muestreo activo del área según las tablas 32 y 33, se observan resultados dentro de los límites establecidos $< 200 \text{ UFC/m}^3$ sin presencia de *Salmonella spp.* Del mismo modo los resultados del muestreo pasivo del área según las tablas 33 y 34, se encuentran dentro de los límites establecidos $< 100 \text{ UFC/4 h}$, sin presencia de *Salmonella spp.* Adicionalmente, **Watson & Cogan, (2019)** establecen límites de contaminación ambiental para salas limpias en operación $< 200 \text{ UFC/m}^3$ y $< 100 \text{ UFC/4 h}$, donde los resultados anteriormente mencionados cumplen con dichos límites establecidos para el grado-D en salas limpias.

En cuanto al muestreo activo del área, éste emplea un muestreador microbiológico de aire que acelera las partículas del ambiente hacia una caja Petri, a una alta velocidad por varios orificios, donde las partículas que transportan microbios impactan con la superficie del agar para su posterior incubación (**Garcia et al., 2019; Whyte, 2005**).

Los resultados microbiológicos del muestreo activo presentan en su mayoría el crecimiento de aerobios totales y mohos-levaduras inferior a 1 UFC/m³, cumpliendo así con las especificaciones de una sala limpia de grado-A/ ISO-5 (**Sandle, 2019**). Por lo tanto, la inocuidad de ambas áreas podría incluso encontrarse en una categoría superior según los resultados obtenidos del método de muestreo activo del área.

En cuanto al método de muestreo activo del difusor, se requiere colocar la caja Petri debajo del difusor de aire por al menos 2 minutos, y posteriormente mediante la medición de los CFM obtenidos anteriormente y el factor de conversión, se debe transformar los minutos de exposición del flujo de aire del difusor a metros cúbicos. Finalmente se obtiene los resultados en UFC/m³ tal como se observa en las tablas 29 y 30.

Tabla 29. Resumen del Análisis Microbiológico del sistema de aire y ventilación del Área de Cosméticos (Muestreo activo del difusor)

Ubicación	Resultados (UFC/ m ³)			Cumplimiento
	Aerobios totales	Mohos-levaduras	Patógenos (<i>Salmonella spp</i>)	
Cabina 1	1	5	Ausente	Cumple
Cabina 2	12	8	Ausente	Cumple
Cabina 3	< 1	6	Ausente	Cumple

Tabla 30. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Naturales (Muestreo activo del difusor)

Ubicación	Resultados (UFC/ m ³)			Cumplimiento
	Aerobios totales	Mohos- levaduras	Patógenos (<i>Salmonella</i> <i>spp</i>)	
Cabina 1	2	17	Ausente	Cumple
Cabina 2	7	20	Ausente	Cumple
Cabina 3	3	15	Ausente	Cumple
Cabina 4: Maceración	1	7	Ausente	Cumple
Cabina 4: Destilado	25	14	Ausente	Cumple
Cabina 4: Preparación	13	35	Ausente	Cumple
Cabina 4: Envasado Primario	5	9	Ausente	Cumple
Área de pesaje	11	6	Ausente	Cumple

En el caso del muestreo pasivo, emplean placas de sedimentación abiertas que permite que corrientes de aire con microorganismos suspendidos entren en contacto con las placas, evaluando así el número de microorganismos de manera semicuantitativa, mediante el número de UFC por cada 4 horas (**Araujo, 2020; Tim Sandle, 2019**). Dicho método concuerda con las Directrices de la Unión Europea para buenas prácticas de fabricación, donde recomiendan expresar la contaminación microbiana como CFU/4 horas en operaciones farmacéuticas sujetas a requisitos reglamentarios (**Tim Sandle, 2015**).

En cuanto a los resultados del muestreo pasivo, como se observan en la tabla 33 y 34, se destaca que, en el área de productos naturales, presenta una mayor presencia de microorganismos respecto al área de Cosméticos, específicamente en la cabina 4. Sin embargo, los resultados obtenidos demuestran que se encuentran dentro del límite establecido por “Monitoreo ambiental de salas limpias en instalaciones de fabricación” según la OMS para placas de sedimentación (**OMS, 2012**).

Por lo tanto, la calidad microbiológica evaluada en superficies y aires mediante los diferentes métodos de muestreo para los análisis microbiológicos de áreas y del sistema de aire y ventilación en las plantas de producción de cosméticos y productos naturales, presentan resultados muy satisfactorios que evidencian un alto control, una adecuada limpieza e inocuidad de ambas áreas.

Tabla 31. Resumen del Análisis Microbiológico del sistema de aire y ventilación del Área de Naturales (Muestreo activo del Área).

Ubicación	Sum. de Aire	Resultados (UFC/ m ³)			Cumplimiento
		Aerobios totales	Mohos-levaduras	Patógenos (<i>Salmonella spp</i>)	
Cabina 1	SM9	< 1	< 1	Ausente	Cumple
Cabina 2	SM10	< 1	< 1	Ausente	Cumple
Cabina 3	SM11	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM12	< 1	< 1	Ausente	Cumple
Cabina 4	SM1	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM2	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM3	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM4	< 1	1	Ausente	Cumple
	SM5	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM6	1	< 1	Ausente	Cumple
	SM7	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM8	< 1	< 1	Ausente	Cumple
Área de pesaje	SM13	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SM14	< 1	< 1	Ausente	Cumple

Nota. Suministro de aire (Sum. de aire)

Tabla 32. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Cosméticos (Muestreo activo del Área)

Ubicación	Sum. de Aire	Resultados (UFC/ m ³)			Cumplimiento
		Aerobios totales	Mohos-levaduras	Patógenos (<i>Salmonella spp</i>)	
Cabina 1	SC1	< 1	1	Ausente	Cumple
	SC2	1	1	Ausente	Cumple
	SC3	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SC4	< 1	< 1	Ausente	Cumple
Cabina 2	SC7	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SC8	< 1	< 1	Ausente	Cumple
Cabina 3	SC10	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SC11	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SC12	< 1	< 1	Ausente	Cumple
	SC13	< 1	< 1	Ausente	Cumple

Nota. Suministro de aire (Sum. de aire)

Tabla 33. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Cosméticos (Muestreo pasivo del Área)

Ubicación	Resultados (UFC/ 4 Horas)			Cumplimiento
	Aerobios totales	Mohos-levaduras	Patógenos (<i>Salmonella spp</i>)	
Cabina 1	3	3	Ausente	Cumple
Cabina 2	1	1	Ausente	Cumple
Cabina 3	1	1	Ausente	Cumple

Tabla 34. Resumen del Análisis Microbiológico del del sistema de aire y ventilación del Área de Naturales (Muestreo pasivo del Área)

Ubicación	Resultados (UFC/ 4 Horas)			Cumplimiento
	Aerobios totales	Mohos- levaduras	Patógenos (<i>Salmonella</i> <i>spp</i>)	
Cabina 1	1	8	Ausente	Cumple
Cabina 2	4	11	Ausente	Cumple
Cabina 3	2	10	Ausente	Cumple
Cabina 4: Maceración	2	6	Ausente	Cumple
Cabina 4: Destilado	7	15	Ausente	Cumple
Cabina 4: Preparación	5	10	Ausente	Cumple
Cabina 4: Envasado Primario	3	9	Ausente	Cumple
Área de pesaje	5	4	Ausente	Cumple

CAPÍTULO IV

4.1 Conclusiones

Se realizaron diferentes ensayos físico-químicos en las áreas de producción de cosméticos y productos naturales para el monitoreo, control, evaluación y clasificación de las misma; la evaluación de partículas no viables (0,5 - 5 micras) en ambas áreas de cumplen con la concentración máxima permitida, del mismo modo, los ensayos de presión diferencial demuestran que ambas áreas se encuentran en el rango establecido (5-20 Pascales) para cada cabina. Además, presentaron resultados satisfactorios en las evaluaciones de la velocidad del aire con un RSD inferior al 5% y con tasas de cambio de aire > 20 cambios /hora por cabina. Por otro lado, los resultados de temperatura y humedad para ambas áreas presentaron valores dentro de las condiciones máximas permitidas, cumpliendo con lo establecido por el “Laboratorio Neofármaco del Ecuador” para el correcto desempeño de sus áreas. En general, ambas áreas con su correspondiente sistema de aire y ventilación demuestran efectividad debido a que presentan valores óptimos que obedecen con las condiciones de funcionalidad y seguridad previstas, para la fabricación de medicamentos no estériles.

Se evaluó la presencia de aerobios totales, mohos, levaduras y *Salmonella spp* (patógenos) mediante diferentes muestreos microbiológicos tanto en aire como en superficies para ambas áreas. En particular, el análisis microbiológico del área aplicado para el análisis de superficies mediante el muestreo del hisopado, presentó resultados dentro de los parámetros establecidos < 200 UFC/100cm² con respaldado de la guía “Validación de Limpieza en la Industria Farmacéutica” basado en la FDA para la fabricación de medicamentos no estériles. Por otro lado, el análisis microbiológico del sistema de aire y ventilación mediante el muestreo pasivo, muestreo activo del área y muestreo activo del difusor, presentó resultados dentro de los límites establecidos < 200 UFC/m³ y < 100 UFC/4 h respectivamente, permitiendo evidenciar el cumplimiento de las BPM, evidenciando seguridad, eficacia, control y calidad en los productos de fabricación.

Se determinó que los resultados de los diferentes parámetros físico-químicos evaluados, específicamente la concentración de partículas en el aire, además de los diferentes análisis microbiológicos realizados dentro de las áreas de producción de cosméticos y productos naturales, permiten clasificar a dichas áreas como ISO 8/ Grado-D para la manufactura de productos farmacéuticos no estériles, según lo especificado en la normativa ISO 14644-1 (Clasificación de la limpieza del aire mediante la concentración de partículas) y la OMS (Monitoreo ambiental de salas limpias).

Se evaluó el índice de capacidad de proceso para diferentes factores ambientales críticos de operación (concentración de partículas en el aire, la temperatura y humedad relativa.) para ambas áreas de producción, donde los resultados de los parámetros analizados presentaron un $C_p > 1,33$ demostrando seguridad en los procesos de manufactura de medicamentos no estériles debido a la capacidad de generar resultados consistentes y dentro de los límites de especificación toleradas para el aseguramiento de calidad.

4.2 Recomendaciones

Efectuar monitoreos periódicos de las áreas para mantenimiento, verificación y conservación de acuerdo con el cumplimiento de parámetros definidos y a las especificaciones

Mantener actualizada la documentación del área y del sistema de aire y ventilación, incluidos los manuales de operación y mantenimiento los planos, los procedimientos, los registros necesarios y todo lo relacionado a las áreas, incluido los registros en las respectivas bitácoras.

Identificar parámetros adicionales que pueden comprometer de manera negativa a las áreas a través de adecuados procesos de identificación y evaluación de riesgos con el fin de obtener una mejora continua, tanto en el control de electrostática en salas limpia para evitar contaminación de productos y daño a los equipos.

Controlar el flujo del personal en el proceso de producción para disminuir la contaminación de un área a otra.

Adicionar pruebas de monitoreo microbiológico al personal que tiene contacto directo con el producto con el fin de identificar otras fuentes de contaminación para garantizar asepsia e inocuidad en salas limpias y asegurar de mejor manera que el producto terminado cumpla con los estándares de calidad.

Se recomienda aplicar es el análisis microbiológico de las yemas de los dedos al personal de producción debido a la alta probabilidad de entrar en contacto con la contaminación microbiana de las superficies de trabajo y de materiales que se utilizan.

MATERIALES DE REFERENCIA

Referencias bibliográficas

- Aghamiri, S., Rabiee, N., Ahmadi, S., Rabiee, M., Bagherzadeh, M., & Karimi, M. (2021). Chapter 2 - Microfluidic devices: Synthetic approaches. In M. R. Hamblin & M. Karimi (Eds.), *Biomedical Applications of Microfluidic Devices* (pp. 23–36). Academic Press. [https://doi.org/https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818791-3.00003-6](https://doi.org/10.1016/B978-0-12-818791-3.00003-6)
- Allied Cleanrooms. (2020). Cleanroom Contamination Sources & Prevention. Retrieved from <https://alliedcleanrooms.com/cleanroom-contamination-sources-prevention/>
- Araujo, J. A. (2020). Fichas sobre Microbiología, (August), 10–12. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.23039.64162>
- ARCSA. Resolución ARCSA-DE-067-2015-GGG la Dirección ejecutiva de la agencia Nacional de regulación, control y vigilancia Sanitaria (2015). <https://doi.org/10.1145/3132847.3132886>
- ARCSA. (2017). Estatuto Organico Agencia De Regulacion Y Vigilancia Sanitaria, (544), 1–41. Retrieved from https://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2017/07/ARCSA-DE-016-2017-JCGO_ESTATUTO-ORGANICO-ARCSA.pdf
- Bennett, B., Cole, G., & Britain, I. of C. E. (Great. (2003). *Pharmaceutical Production: An Engineering Guide*. IChemE. Retrieved from https://books.google.com.ec/books?id=pp_53D5GejYC
- Boss, K. (2021). CLEANROOM TERMINOLOGY: AIR CHANGE RATES. Retrieved from <https://angstromtechnology.com/cleanroom-terminology-air-change-rates/>
- Castaño, J. C., & Orozco, C. A. (2008). Metodología para el diseño de cuartos limpios. *Scientia et Technica*, 38(38), 187–192.
- Cervantes, J., Orihuela, R., & Rutiaga, J. G. (2017). Acerca del Desarrollo y Control

- de Microorganismos en la Fabricación de Papel. *Instituto Tecnológico de Aguascalientes*, 54. Retrieved from <https://www.redalyc.org/journal/944/94454631001/html/>
- Cleanroom Industries Sdn. Bhd. (2015). Principles of Cleanroom Validation. Retrieved from <https://www.cleanroom-industries.com/index.php/resources/principles-of-cleanroom-validation/399>
- Cleanroom Supplies Ltd. (2015). ISO14644 Cleanroom Guide. Retrieved from <https://cleanroomsuppliesltd.com/downloads/cleanroom-guide-iso-14644.pdf>
- Cobo, F., Crela, D., & Concha, A. (2008). Airborne particle monitoring in clean room environments for stem cell cultures. *Biotechnology Journal*, 3(1), 43–52. <https://doi.org/10.1002/biot.200700122>
- De Muth, J. E. (2019). *Practical Statistics for Pharmaceutical Analysis: With Minitab Applications*. Springer International Publishing. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=WWvDDwAAQBAJ>
- Esteves, S. C., Varghese, A. C., & WorriLOW, K. C. (2016). *Clean Room Technology in ART Clinics: A Practical Guide*. CRC Press. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=oZmKDQAAQBAJ>
- Food and Drug Administration. Guidance for Industry Process Validation: General Principles and Practices, 1 Current Good Manufacturing Practices (CGMP) § (2011). <https://doi.org/10.1201/9781420035520.ch3>
- Galvez, P., Ruiz, M., Soria, B., & Clares, B. (2011). Monitorización de partículas de una sala blanca: requerimientos normativos en terapias avanzadas., 1–12.
- García, C., Barro, R., & Llompart, M. (2019). *Indoor air sampling. Encyclopedia of Analytical Science* (Vol. 1). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101983-2.00008-6>
- Gonzales, Ó. (2016). *Sistema de gestión de calidad: Teoría y práctica bajo la norma ISO 2015*. Ecoe Ediciones. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=baUwDgAAQBAJ>
- Hald, T. (2013). 2 - Pathogen update: Salmonella. In J. Sofos (Ed.), *Advances in*

Microbial Food Safety (pp. 25–46). Woodhead Publishing.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1533/9780857098740.2.25>

Hanna Instruments. (2020). Contenido de humedad en medicamentos. Retrieved from <https://hannainst.com.mx/boletines/contenido-de-humedad-en-medicamentos/#:~:text=El exceso de humedad puede,%2C bacterias%2C moho y ácaros.>

International Organization for Standardization. (2016). *Cleanrooms and associated controlled environments- Part 1: Classification of air cleanliness by particle concentration. ISO 14644-1* (Vol. 2). Retrieved from <https://apastyle.apa.org/style-grammar-guidelines/references/examples/iso-standard-references>

ISO. (2015). Norma Internacional ISO 9001 Sistemas de gestión de la calidad. *International Organization for Standardization, Quinta Edi*, 29. Retrieved from <https://www.redalyc.org/pdf/2110/211026873005.pdf%0Ahttp://www.itvalledelguadiana.edu.mx/ftp/Normas ISO/ISO 9001-2015 Sistemas de Gestión de la Calidad.pdf>

ISO. (2019). *Salas limpias y locales anexos controlados. Parte 3: Métodos de ensayo.* (13.040.35 / Salas limpias y ambientes controlados asociados) (Vol. 06).

Javier Bottale, A., & Ceferina Riera, L. M. (2016). Establecimiento de límites microbiológicos internos para áreas clasificadas Grado D. *Revista Cubana de Farmacia*, 50(1), 30–43.

Kanegsberg, B., & Kanegsberg, E. (2011). *Handbook for Critical Cleaning: Applications, Processes, and Controls, Second Edition*. CRC Press. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=jkm3BgAAQBAJ>

Ministerio de Salud Pública. (2013). Reglamento De Control Y Funcionamiento De Los Establecimientos Farmacéuticos La Ministra De Salud Pública. *Msp*, 0(0813), 1–10. Retrieved from <http://www.controlsanitario.gob.ec/wp-content/uploads/downloads/2013/11/ESTABLECIMIENTOS-FARMACEUTICOS.pdf>

Mohamad Seif El-Din Ashour, Moselhy Salah Mansy, M. E. E. (2011).

- Microbiological Environment Monitoring in Pharmaceutical Facility. *Egyptian Academic Journal of Biological Sciences*, 3(1), 63–74.
- Mugoyela, V., & Mwambete, K. (2010). Microbial contamination of nonsterile pharmaceuticals in public hospital settings. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 443. <https://doi.org/10.2147/tcrm.s12253>
- Napoli, C., Marcotrigiano, V., & Montagna, M. T. (2012). Air sampling procedures to evaluate microbial contamination: A comparison between active and passive methods in operating theatres. *BMC Public Health*, 12(1), 1. <https://doi.org/10.1186/1471-2458-12-594>
- Nassani, B. M. (2004). Cleaning Validation in the Pharmaceutical Industry. *Institute of Validation Technology*, 38–58. Retrieved from http://www.ivtnetwork.com/sites/default/files/Cleaning Validation in the Pharmaceutical Industry_0.pdf
- Neofarmaco. (2021). Calidad e Innovación. Retrieved from <https://neofarmaco.com/quienes-somos/>
- Olivas, E., & Alarcon, L. R. (2002). Manual de prácticas. Laboratorio de microbiología básica y microbiología de alimentos. *Uacj*, 9–10.
- Organización Mundial de la Salud. (2003). Annex 4 Good Manufacturing Practices for pharmaceutical products: main principles Anexo 4 Buenas Prácticas de Manufactura para productos farmacéuticos: principios generales, (908).
- OMS. (2011a). Annex 5 Supplementary Guidelines on Good Manufacturing Practices for Heating, Ventilation and Air- Conditioning Systems for Non-sterile Pharmaceutical Dosage Forms. *WHO Technical Report Series*, (961), 215–260.
- OMS. (2011b). Annex 5 Supplementary guidelines on good manufacturing practices for heating , ventilation and air- conditioning systems for non-sterile pharmaceutical dosage forms. *WHO Technical Report Series*, (961), 215–260.
- OMS. (2011c). Annex 6 WHO Good Manufacturing Practices for Sterile Pharmaceutical Products. *WHO Technical Report Series*, (961), 45–47. Retrieved from

https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/GMPSterilePharmaceuticalProductsTRS961Annex6.pdf

OMS. (2012). *Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities*. Retrieved from https://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/env_monitoring_cleanrooms_final.pdf

OMS. (2017). Annex 8 Guidelines on heating, ventilation and air-conditioning systems for non-sterile pharmaceutical products. *WHO Technical Report Series, No. 1010, 2018*, 279–279. <https://doi.org/10.1515/9783110499117-014>

OMS. (2019). Annex 2 Guidelines on heating, ventilation and air - conditioning systems for non-sterile pharmaceutical products. *WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations Fifty-Third Report*, 1–25. <https://doi.org/10.1515/9783110499117-008>

Ostrove, S. (2019). *Equipment Qualification in the Pharmaceutical Industry*. Elsevier Science. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=XGGdDwAAQBAJ>

Padilla, E. (2018). “*Calificación del sistema de calentamiento, ventilación y aire acondicionado (HVAC) A en la fabricación de líquidos estériles en un Laboratorio Farmacéutico Nacional.*” Universidad Nacional de Trujillo. Retrieved from https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/10111/Padilla_Velasquez_Orlando_Edward.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Page, P. M. (2020). Quality Assurance of Pharmaceuticals. *Encyclopedia of Pharmaceutical Science and Technology, Fourth Edition*, 2885–2894. <https://doi.org/10.1081/e-ept4-120003783>

Paredes, E. (2020). *Calificación de salas limpias de fabricación, envasado y acondicionado de productos farmacéuticos líquidos no estériles*. Universidad Nacional de Trujillo. Retrieved from https://dspace.unitru.edu.pe/bitstream/handle/UNITRU/16321/Paredes_Monzon_Edin_Walter.pdf?sequence=1&isAllowed=y

Patrick Katz. (2016). Validation and qualification in the regulated environment.

BINDER Whitepaper, pp. 1–10. Retrieved from https://www.labokraft.hu/uploads/files/2016_10_wp_Validation-and-Qualification-in-the-regulated-environment_EN.pdf

Pedreira, C. H., & Portofilipe, F. D. S. (2015). Application of Statistical Process Control (SPC) in its Quality control. *Tecnología Química*, 36(1), 130–145. <https://doi.org/10.1590/2224-6185.2016.1>.

Pérez, H., & Sánchez, V. (2010). Propuesta de diseño de monitoreo ambiental microbiológico para diagnóstico de niveles de contaminación en áreas de procesamiento aséptico. *ICIDCA : Sobre Los Derivados de La Caña de Azúcar*, 44(3), 7–14.

Peter Bonner, A. I. y, & Holloway, G. (2010). Organismos Nacionales de Normalización en Países en Desarrollo. *Progresar Rápidamente*, 88.

Pulido, H., & De la Vara Salazar, R. (2013). *Control estadístico de calidad y seis sigma*. McGraw-Hill. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=jjZjQwAACAAJ>

Salaman, A. L. (2018). Limitations of Microbial Environmental Monitoring Methods in Cleanrooms. Retrieved from <https://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/349192-Limitations-of-Microbial-Environmental-Monitoring-Methods-in-Cleanrooms/>

Sandle, T. (2019). Introduction to Biocontamination and Biocontamination Control, 1–9. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814911-9.00001-8>

Sandle, Tim. (2014). Examination of the order of incubation for the recovery of bacteria and fungi from pharmaceutical-grade cleanrooms. *International Journal of Pharmaceutical Compounding*, 18(3), 242–247.

Sandle, Tim. (2015). Settle plate exposure under unidirectional airflow and the effect of weight loss upon microbial growth. *European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences*, 20(2), 45–50.

Sandle, Tim. (2016a). Cleanrooms and environmental monitoring. *Pharmaceutical Microbiology*, 199–217. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100022-9.00016-5>

- Sandle, Tim. (2016b). *Pharmaceutical Microbiology: Essentials for Quality Assurance and Quality Control*. Cambridge: Elsevier Science. Retrieved from <https://books.google.com.ec/books?id=TTTrpsgEACAAJ>
- Sandle, Tim. (2019a). Designing and Implementing an Environmental Monitoring Program. *Biocontamination Control for Pharmaceuticals and Healthcare*, 159–178. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814911-9.00010-9>
- Sandle, Tim. (2019b). Viable Environmental Monitoring Methods. *Biocontamination Control for Pharmaceuticals and Healthcare*, 83–101. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814911-9.00006-7>
- Spectro Scientific. (2014). Lasernet fines Q200 - A soluion to oil analysis including particle count and particle shape classification. Retrieved from <https://www.spectrosci.com/products/product/Inf-q200/?fileID=8a808189470570b30147da65195f1450>
- Sun, W. (2013). Update — Quantification and Validation of Minimum Pressure Differentials when Using Auxiliary Devices (Part 2), 119, 1–9.
- Terra Universal Inc. (2012). FS209E and ISO cleanroom Standards. *Terra Universal*, 4. Retrieved from <http://www.terrauniversal.com/cleanroos/iso-classification-cleanrro-standards.php>
- United States Pharmacopeial. (2013). Control and Monitoring of Aseptic, 17(2), 784–794.
- Utescher, C. L. D. A., Franzolin, M. R., Trabulsi, L. R., & Gambale, V. (2007). Microbiological monitoring of clean rooms in development of vaccines. *Brazilian Journal of Microbiology*, 38(4), 710–716. <https://doi.org/10.1590/S1517-83822007000400023>
- Vargas, E. (2017). Condiciones de control, fuentes de contaminación y agentes desinfectantes empleados en una sala blanca. *Pensamiento Actual*, 17(28), 99. <https://doi.org/10.15517/pa.v17i28.29526>
- Watson, J., & Cogan, L. S. M. (2019). *Pharmacy Practice E-Book*. Elsevier Health Sciences. Retrieved from

<https://books.google.com.ec/books?id=RK6kDwAAQBAJ>

- Welker, R. (2010). *Continuous Contamination Monitoring Systems. Developments in Surface Contamination and Cleaning: Particle Deposition, Control and Removal* (First Edit). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/B978-1-4377-7830-4.10004-0>
- Whyte, W. (2005). Collection efficiency of microbial methods used to monitor cleanrooms. *European Journal of Parenteral and Pharmaceutical Sciences*, 10(2), 3–7.
- Whyte, W. (2010). *Cleanroom Technology: Fundamentals of Design, Testing and Operation*. Wiley. Retrieved from https://books.google.com.ec/books?id=pO_tAouq1X8C
- Wu, G. fu, & Liu, X. hua. (2007). Characterization of predominant bacteria isolates from clean rooms in a pharmaceutical production unit. *Journal of Zhejiang University. Science. B.*, 8(9), 666–672. <https://doi.org/10.1631/jzus.2007.B0666>

Anexos

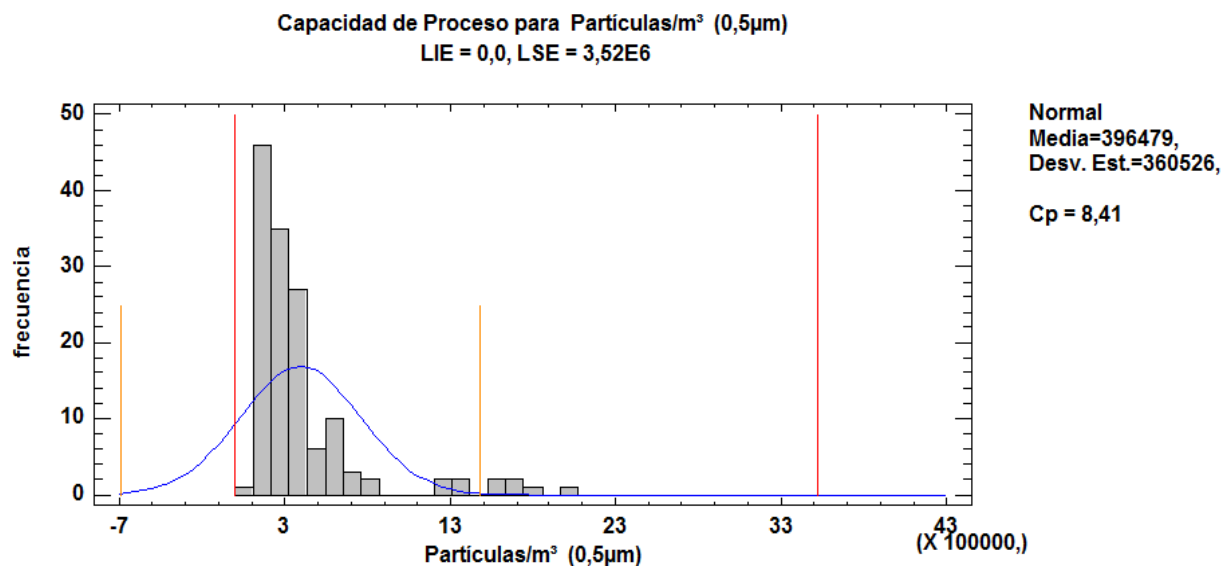


Figura 6. Gráfico de distribución Normal de los resultados de la concentración de partículas de tamaño 0,5 µm en el área de cosméticos

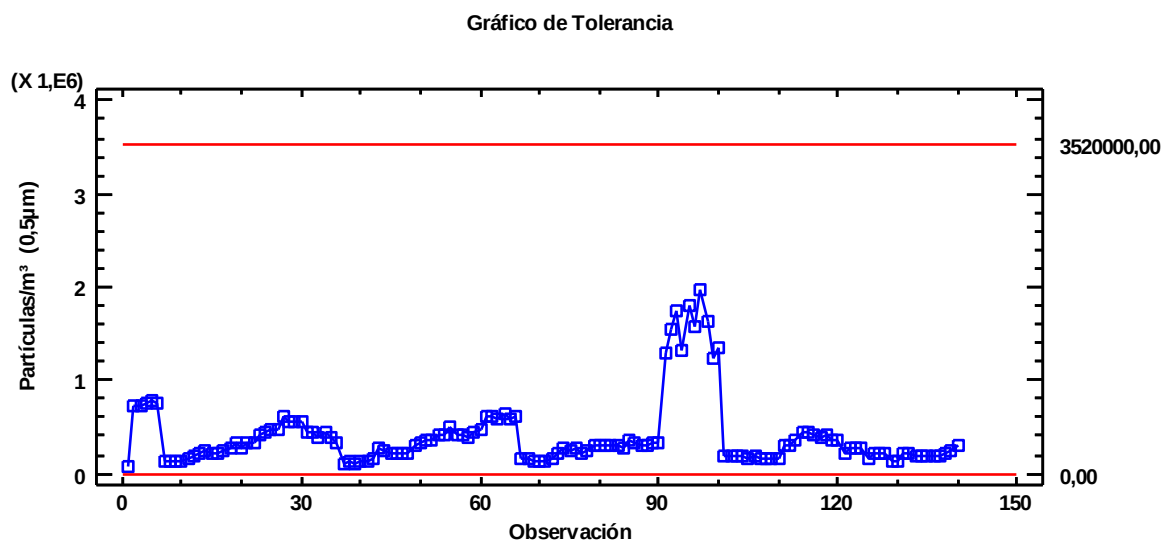


Figura 7. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 3520000 – LIE 0) para el tamaño de partícula de 0,5 µm en el área de cosméticos

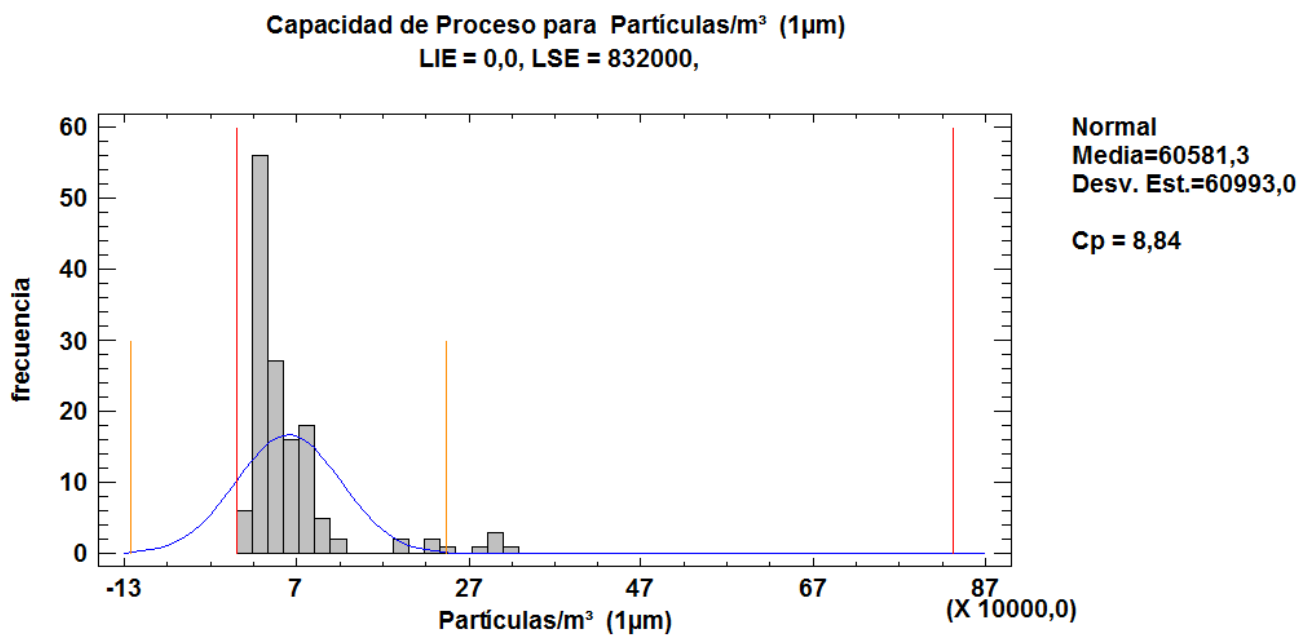


Figura 8. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partículas de tamaño 1 µm en el área de cosméticos

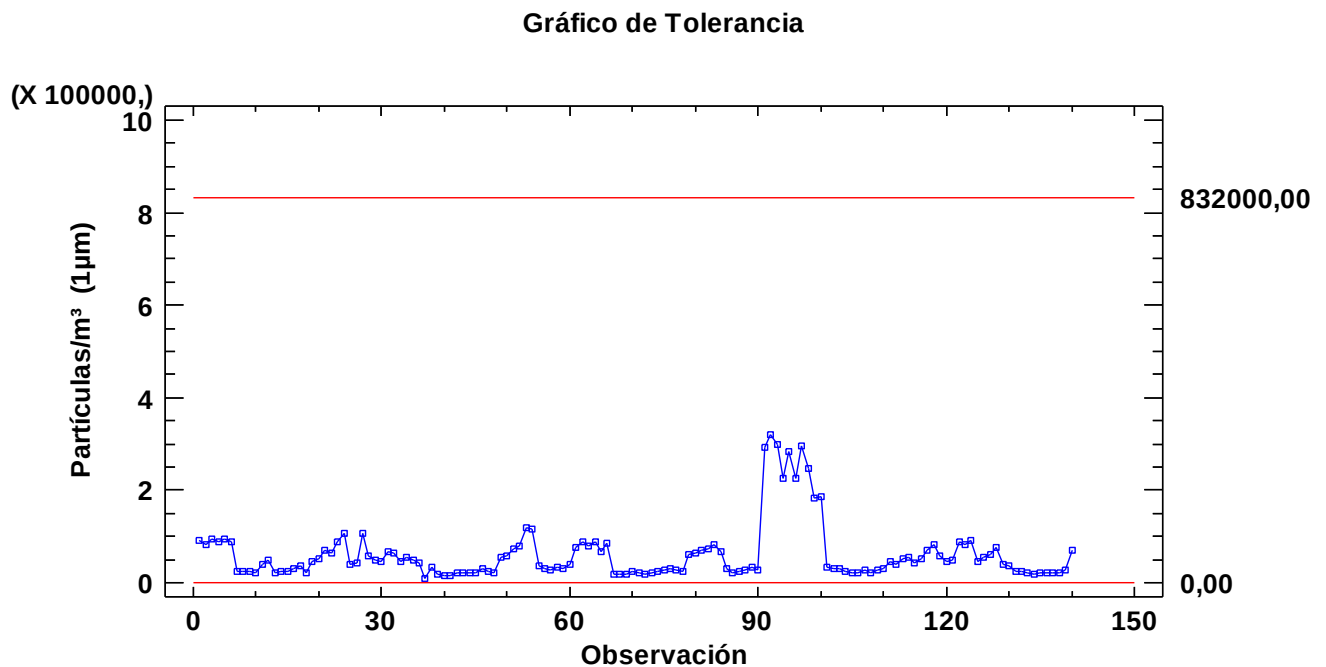


Figura 9. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 832000 - LIE 0) para el tamaño de partícula 1 µm en el Área de Cosméticos

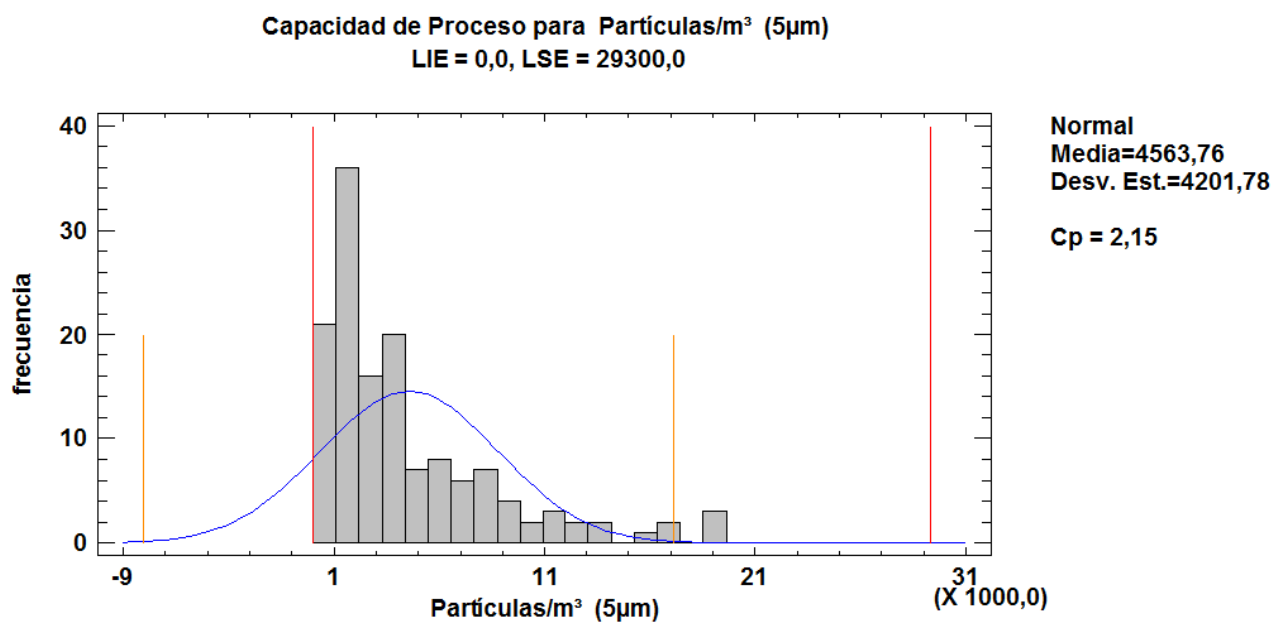


Figura 10. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partícula de tamaño 5 µm en el área de cosméticos

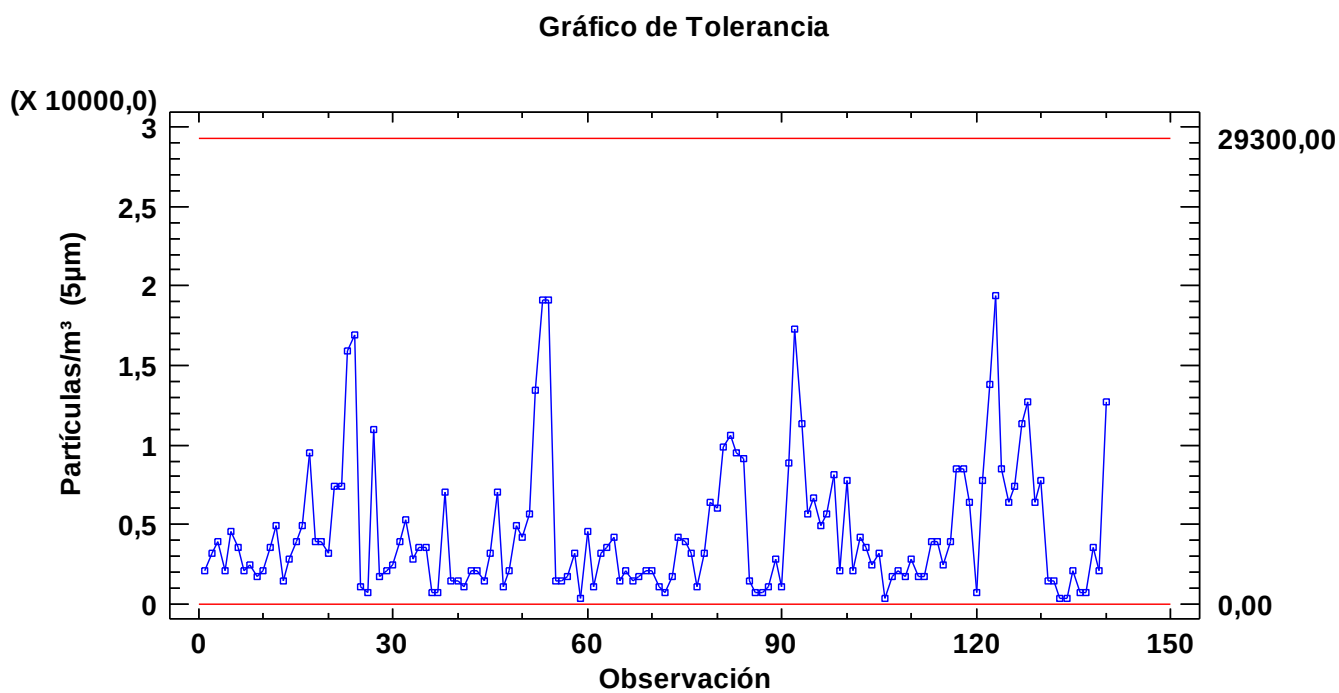


Figura 11. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 29300 – LIE 0) para el tamaño de partícula 5 µm en el área de cosméticos

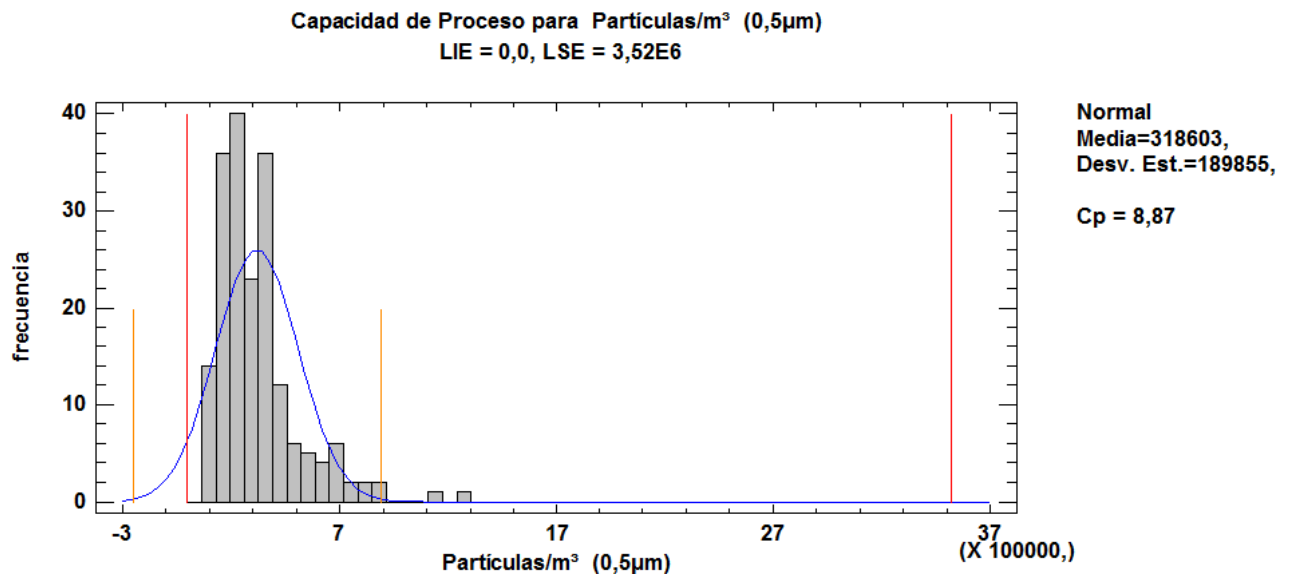


Figura 12. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partícula de tamaño 0,5 µm en el área de productos naturales

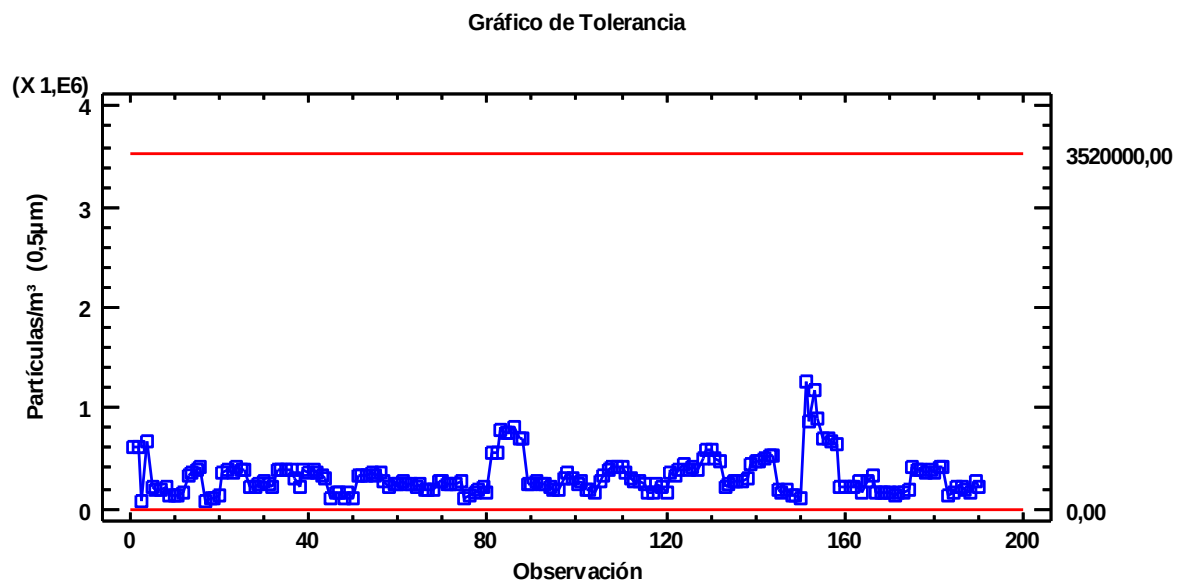


Figura 13. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 3520000 – LIE 0) para el tamaño de partícula de 0,5 µm en el área de naturales

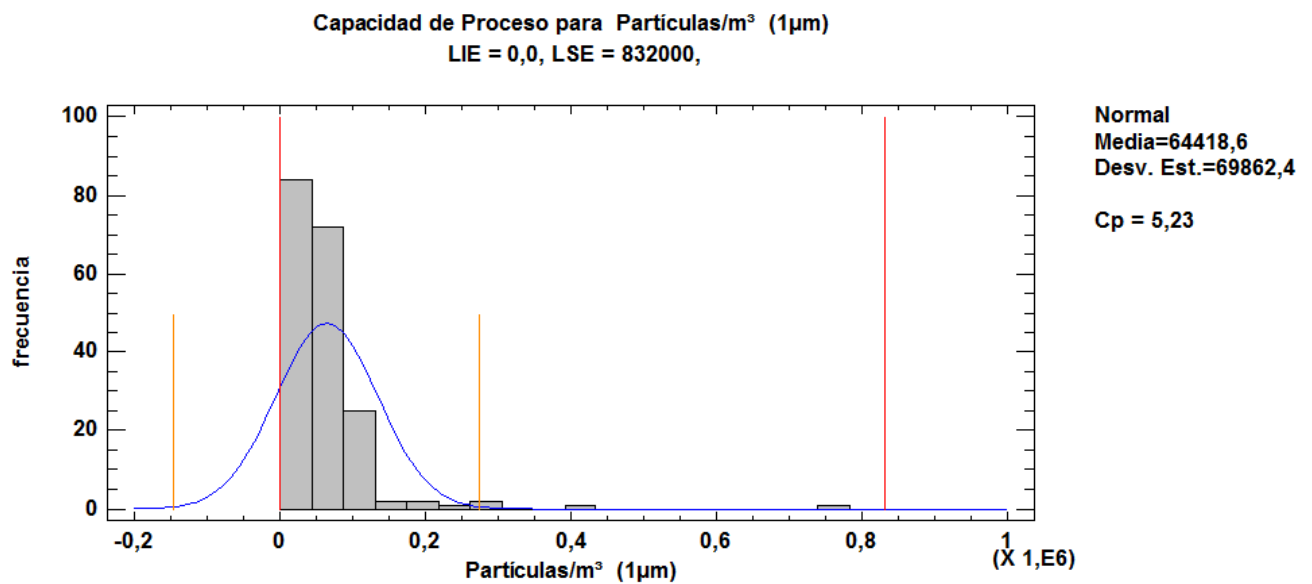


Figura 14. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partículas de tamaño 1 µm en el área de naturales

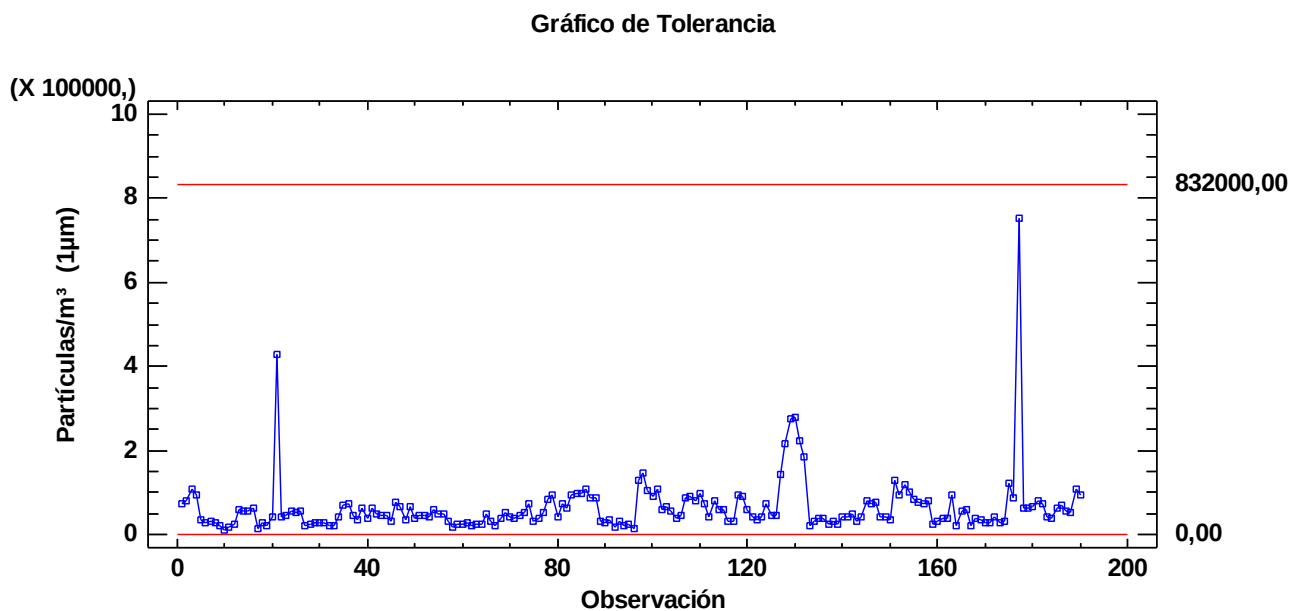


Figura 15. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 832000 - LIE 0) para el tamaño de partícula 1 µm en el área de naturales

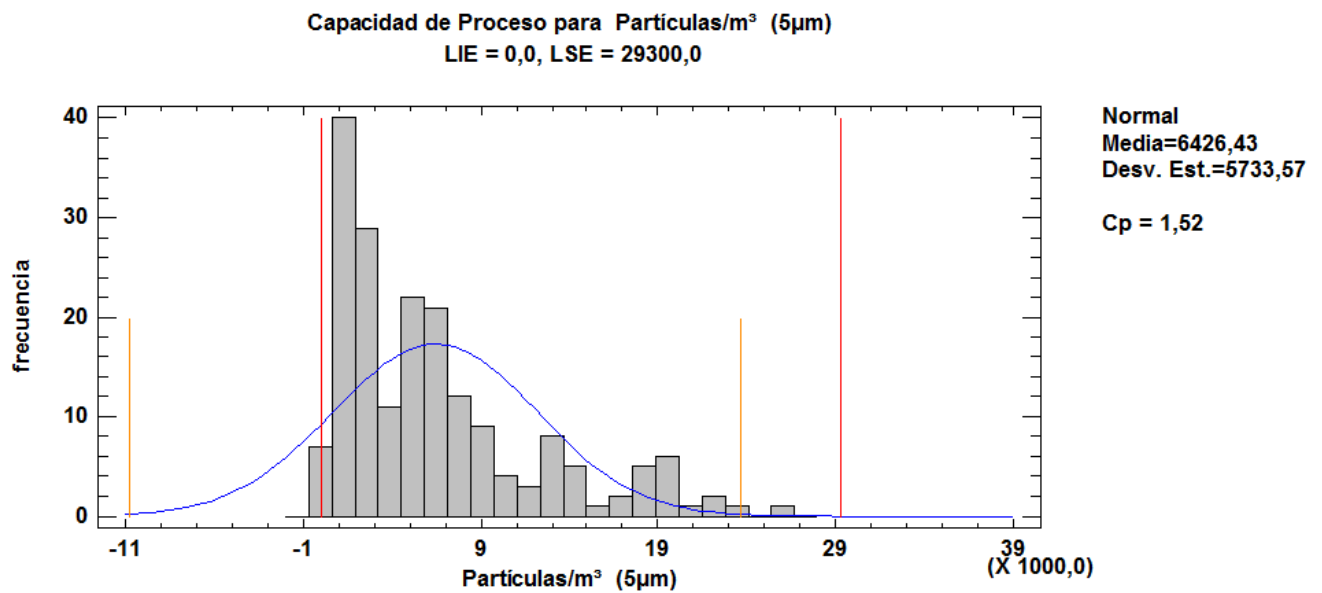


Figura 16. Gráfico de distribución Normal de los resultados de concentración de partícula de tamaño 5 µm en el área de naturales

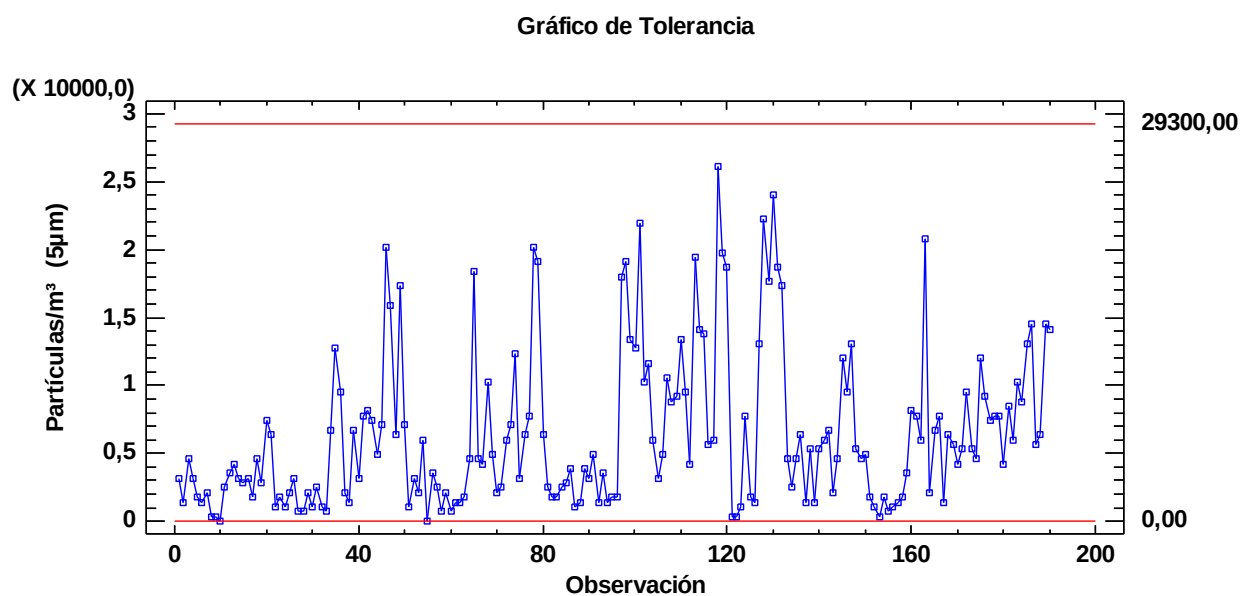


Figura 17. Gráfico de los límites de tolerancia establecidos (LSE 29300 – LIE 0) para el tamaño de partícula 5 µm en el área de naturales

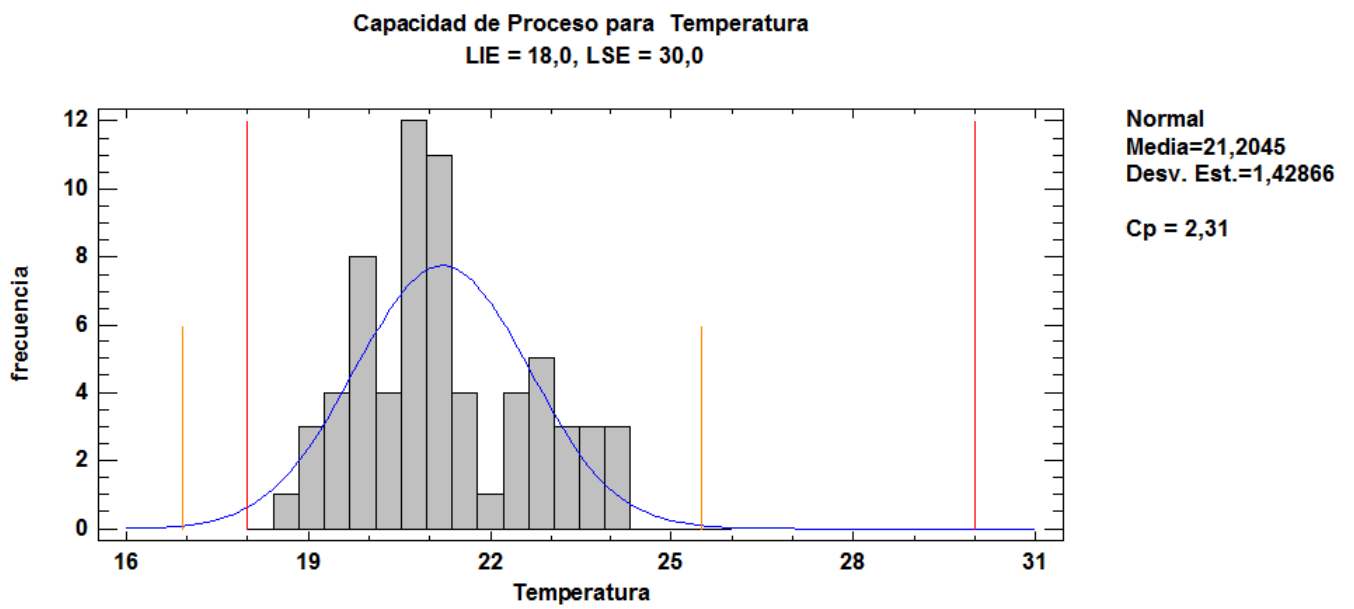


Figura 18. Distribución Normal de los resultados de temperatura en el área de cosméticos

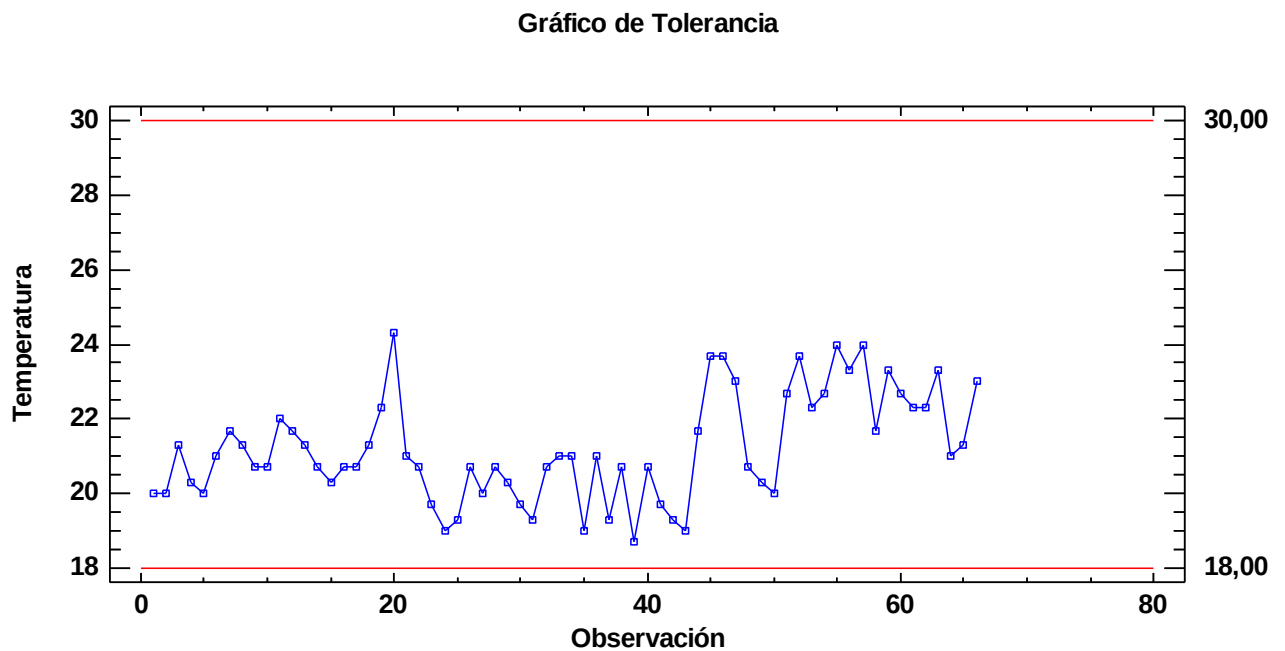


Figura 19. Gráfico del límite de tolerancia para los resultados de temperatura del área de cosméticos.

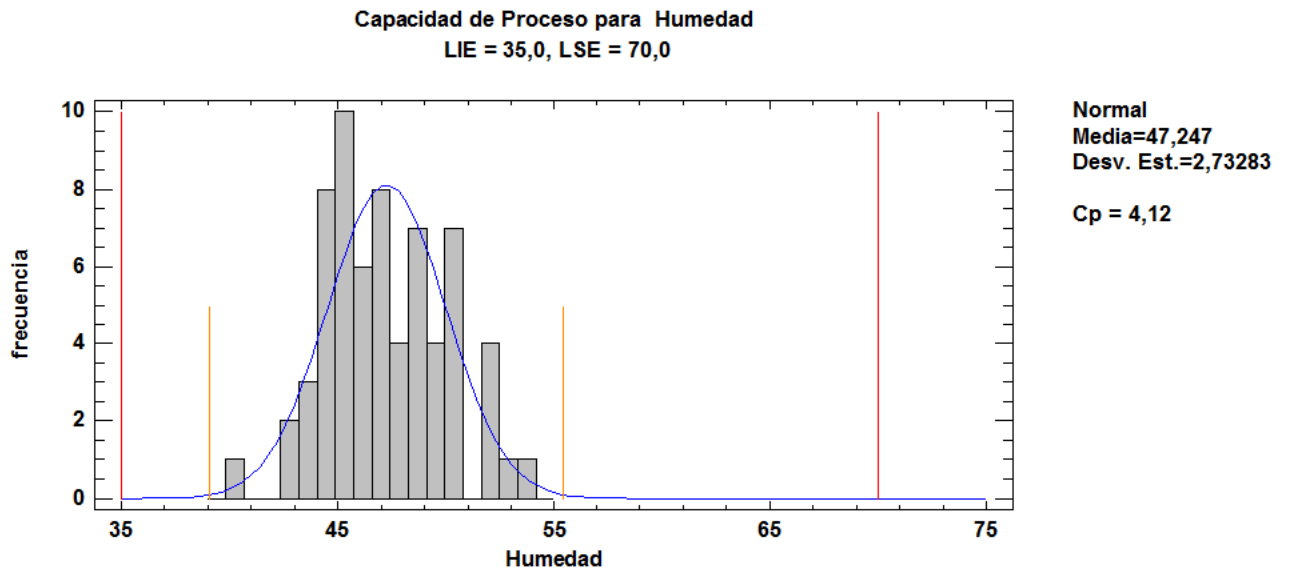


Figura 20. Distribución Normal de los resultados de Humedad en el área de cosméticos

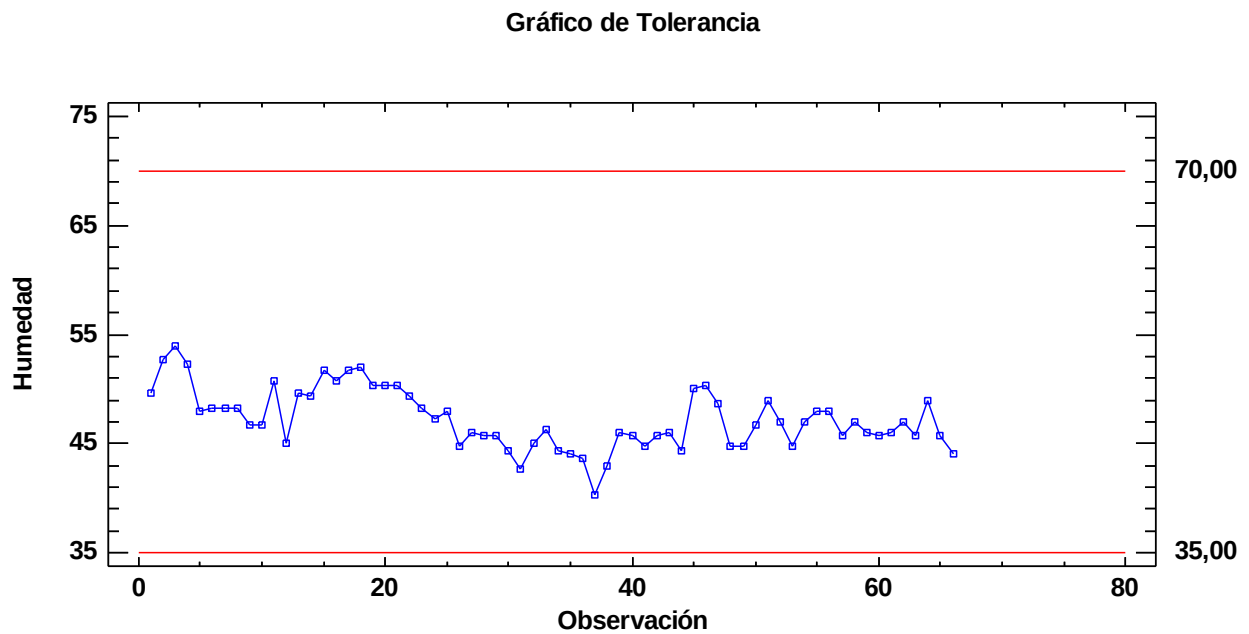


Figura 21. Gráfico del límite de tolerancia para los resultados de Humedad del área de cosméticos.

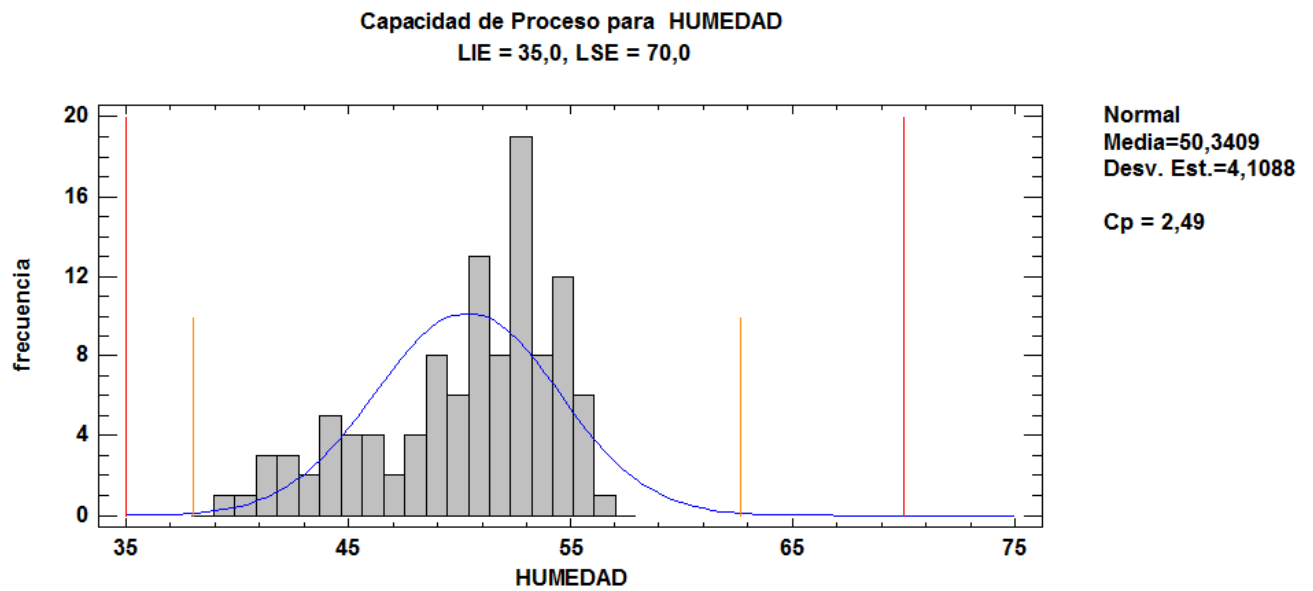


Figura 22. Distribución Normal de los resultados de temperatura en el área de naturales

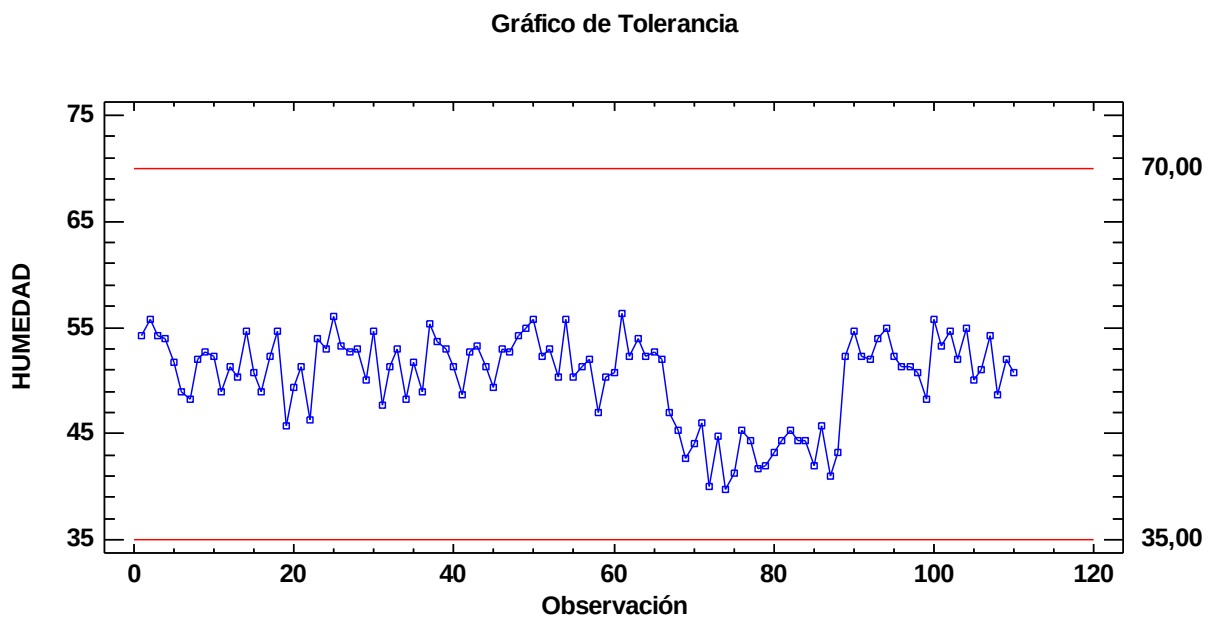


Figura 23. Gráfico del límite de tolerancia para los resultados de Humedad del área de naturales

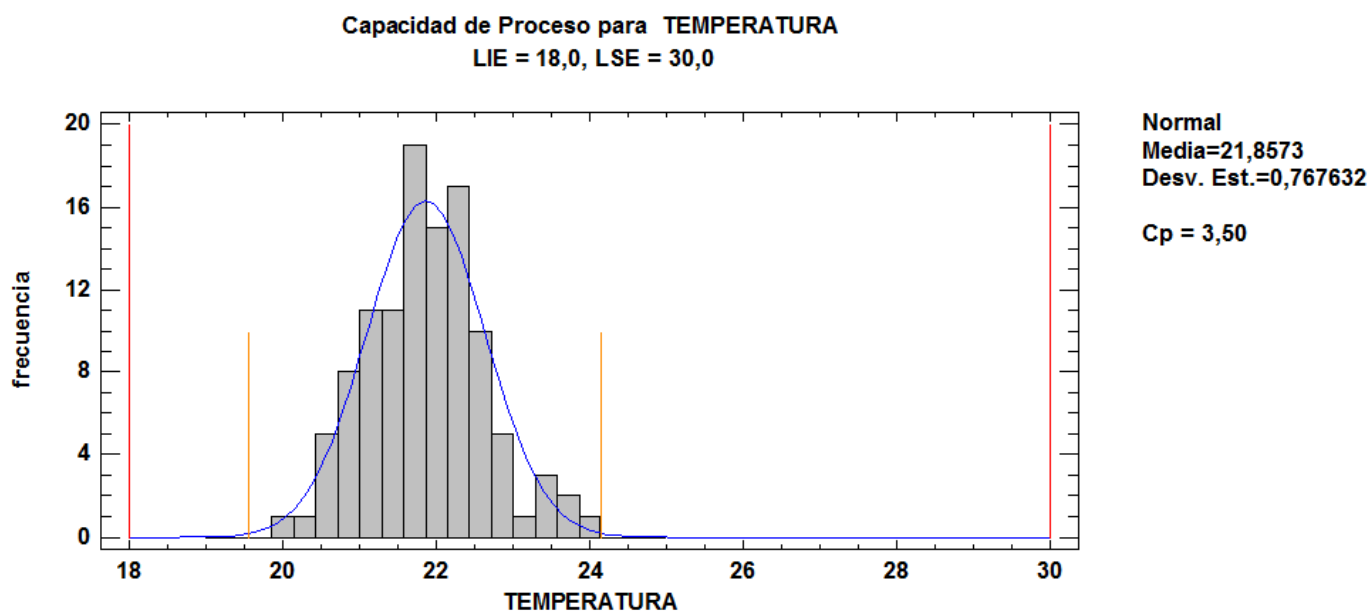


Figura 24. Gráfico de Tolerancia para la Temperatura en el Área de Naturales

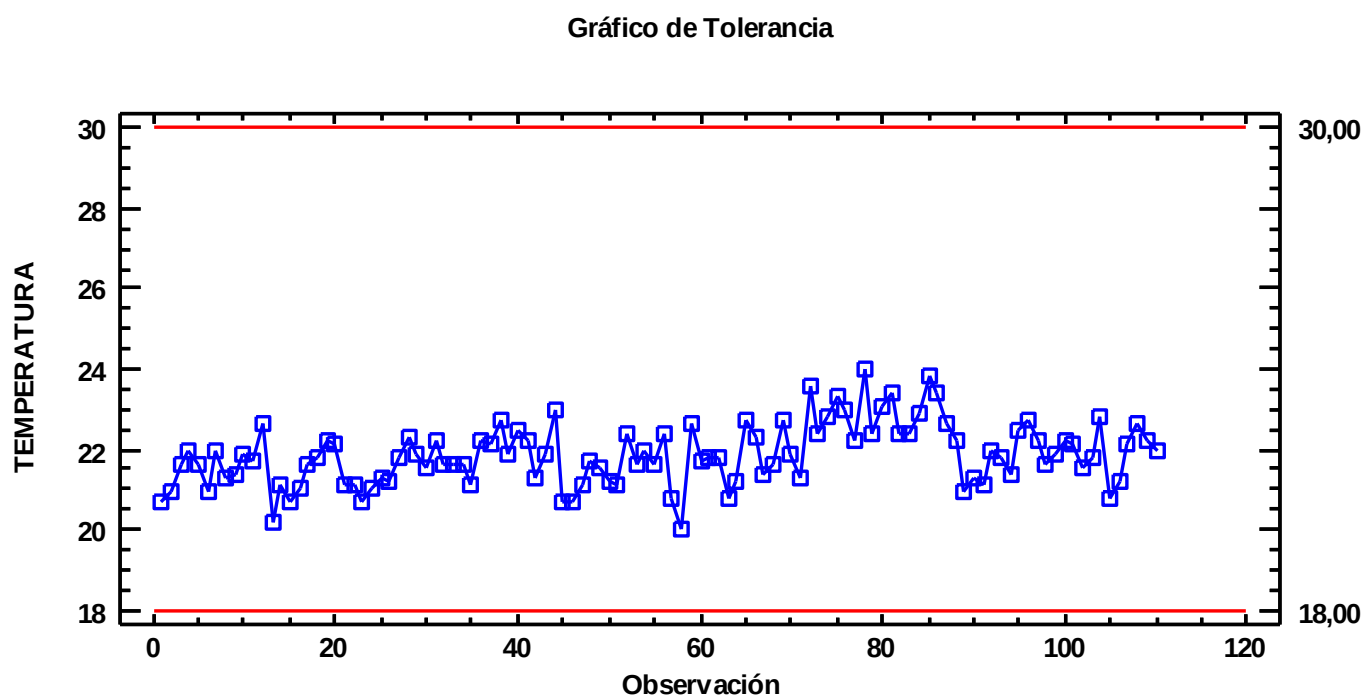


Figura 25. Gráfico de Tolerancia para la Temperatura del Área de Naturales

Tabla 35. *Puntos de ventilación y extracción del sistema de aires*

Área de Cosméticos	
Código	Ubicación
SC1	CABINA 1
SC2	CABINA 1
SC3	CABINA 1
SC4	CABINA 1
EXTC1	CABINA 1
EXTC2	CABINA 1
EXTC3	CABINA 1
SC5	PASILLO
SC6	PASILLO
SC7	CABINA 2
SC8	CABINA 2
EXTC4	CABINA 2
EXTC5	CABINA 2
SC9	PASILLO
SC10	CABINA 3
SC11	CABINA 3
SC12	CABINA 3
SC13	CABINA 3
EXTC8	CABINA 3
EXTC9	CABINA 3
EXTC10	CABINA 3

Nota. SC (Suministro de aire cosméticos)

EXTC (Extracción de aire cosméticos)

Tabla 36. Puntos de ventilación y extracción del sistema de aires

Área de Productos Naturales	
Código	Ubicación
SM1	CABINA 4
SM2	CABINA 4
SM3	CABINA 4
SM4	CABINA 4
SM5	CABINA 4
SM6	CABINA 4
SM7	CABINA 4
SM8	CABINA 4
SM9	CABINA 1
SM10	CABINA 2
SM11	CABINA 3
SM12	CABINA 3
SM13	ÁREA DE PESAJE
SM14	ÁREA DE PESAJE
SM15	PASILLO
SM16	PASILLO
EXT1	CABINA 4
EXT2	CABINA 4
EXT3	CABINA 4
EXT4	CABINA 4
EXT5	CABINA 4
EXT6	CABINA 4
EXT7	CABINA 4
EXT8	CABINA 4
EXT9	ÁREA DE LAVADO
EXT10	ÁREA DE LAVADO
EXT11	CABINA 1
EXT12	CABINA 2
EXT13	CABINA 3
EXT14	ÁREA DE PESAJE

Nota. SM (Suministro de aire naturales)

EXT (Extracción de aire naturales)

Tabla 37. Evidencia fotográfica del muestreo de partículas

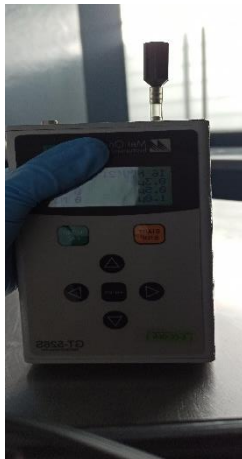
Ubicación	Evidencia
ÁREA DE COSMÉTICOS	 
ÁREA DE PRODUCTOS NATURALES	 

Tabla 38. Evidencia fotográfica del ensayo de temperatura y humedad

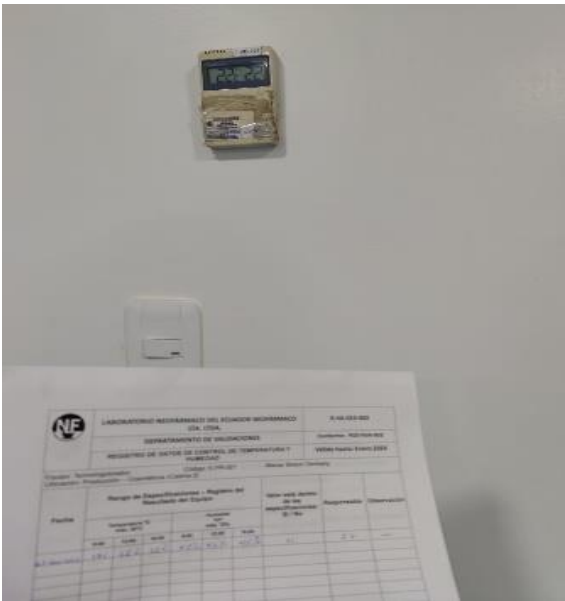
Ubicación	Evidencia
ÁREA DE COSMÉTICOS	
ÁREA DE PRODUCTOS NATURALES	

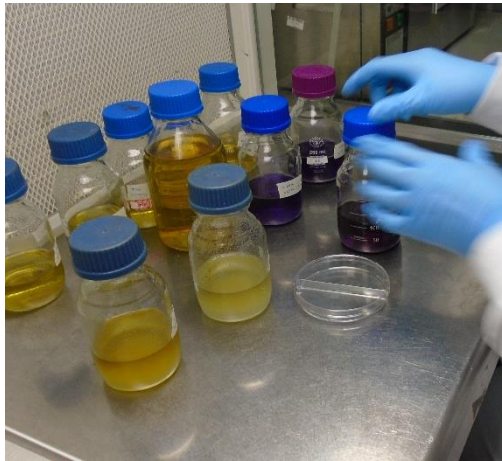
Tabla 39. Evidencia fotográfica del ensayo de la velocidad del aire/tasas de cambio de aire

Tipo de muestreo	Evidencia
<p>ÁREA DE COSMÉTICOS</p>	<div>   </div>
<p>ÁREA DE PRODUCTOS NATURALES</p>	<div>   </div>

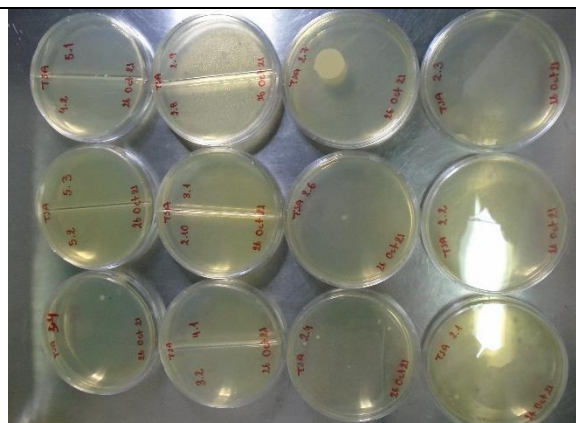
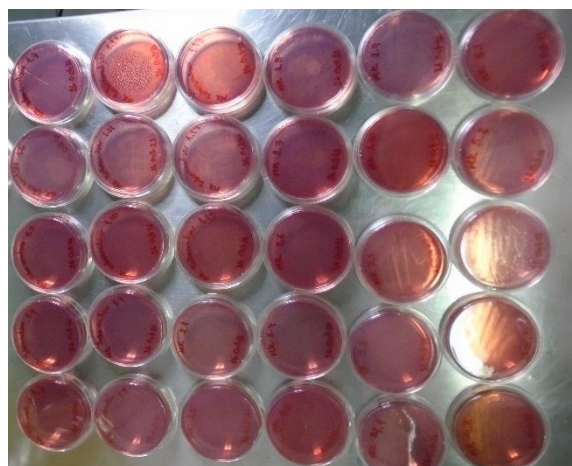
Tabla 40. Evidencia fotográfica del muestreo microbiológico

Tipo de muestreo	Evidencia
MÉTODO DEL HISOPO	
MUESTREO ACTIVO DEL ÁREA	
MUESTREO PASIVO	
MUESTREO ACTIVO DEL DIFUSOR	

Tabla 41. Evidencia de la preparación del medio de cultivo, del muestreo y de la incubación microbiológica

Tipo de evidencia	Evidencia
PREPARACIÓN DE LOS MEDIOS DE CULTIVO	
TUBOS DE CALDO TSB PARA EL MUESTREO DEL HISOPO	
CAJAS PETRI PARA INCUBACIÓN	

EVALUCIÓN DEL CRECIMIENTO MICROBIOLÓGICO



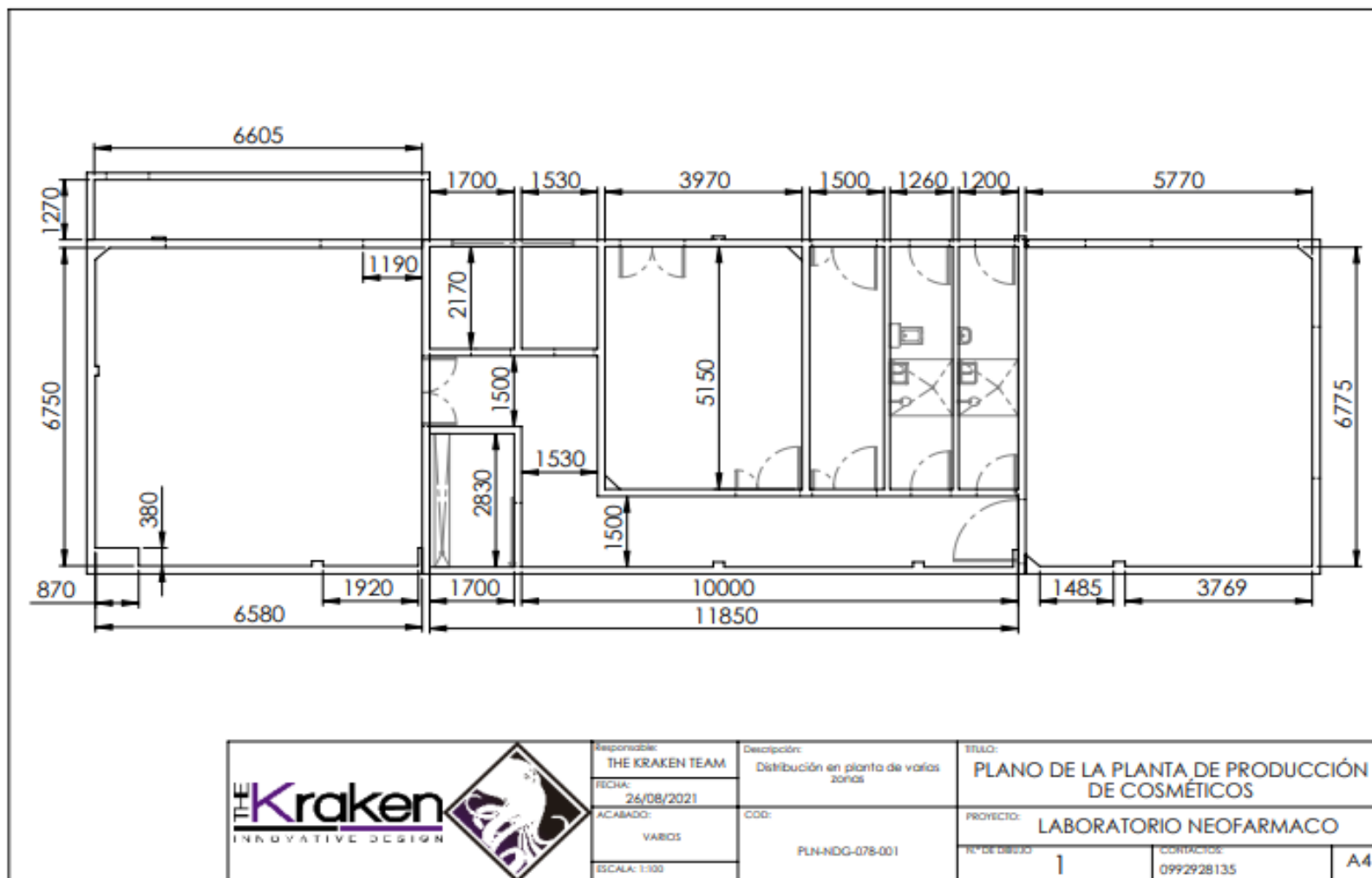


Figura 26. Plano de la planta de producción cosméticos

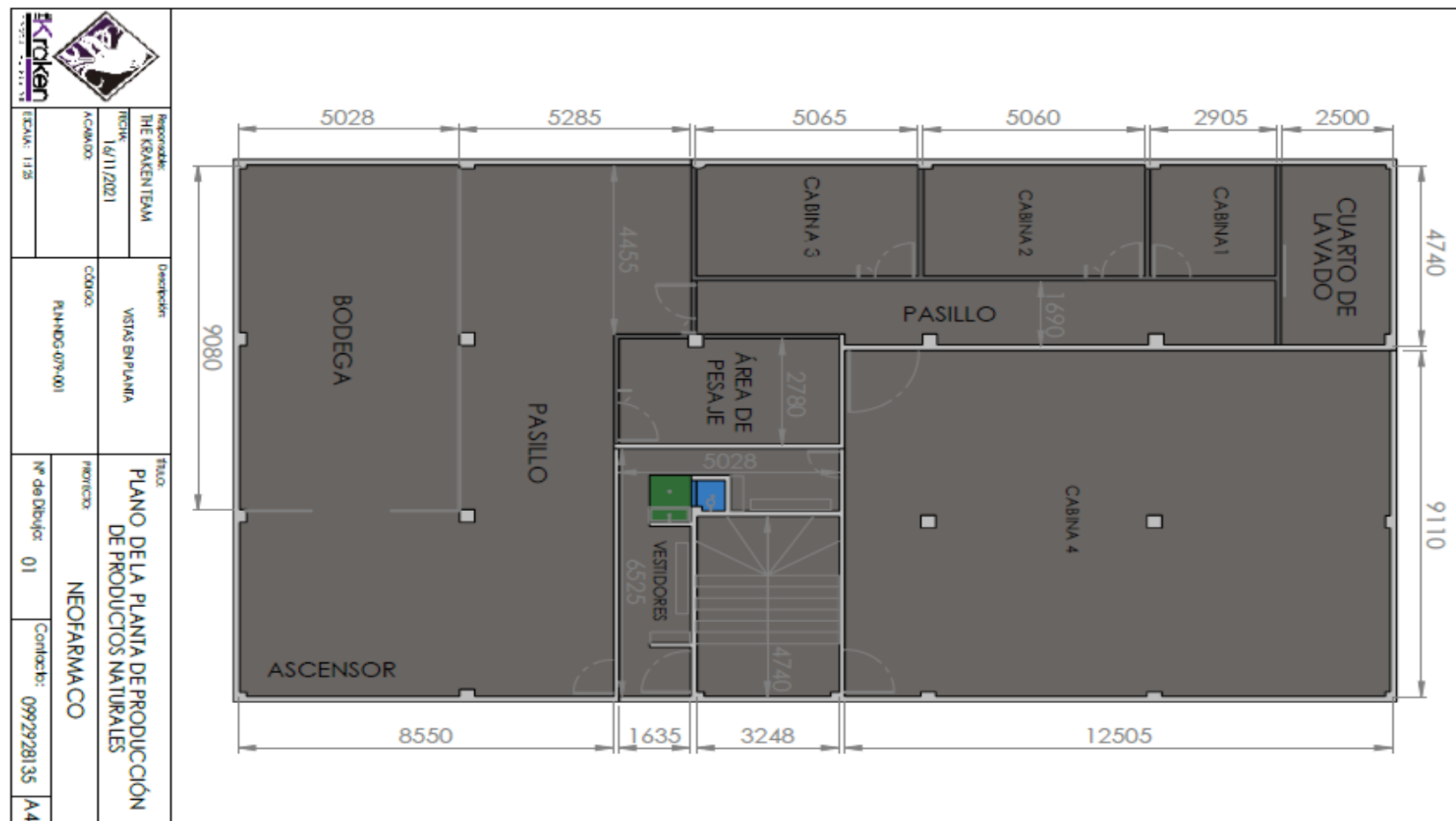


Figura 28. Plano de la planta de producción de productos naturales

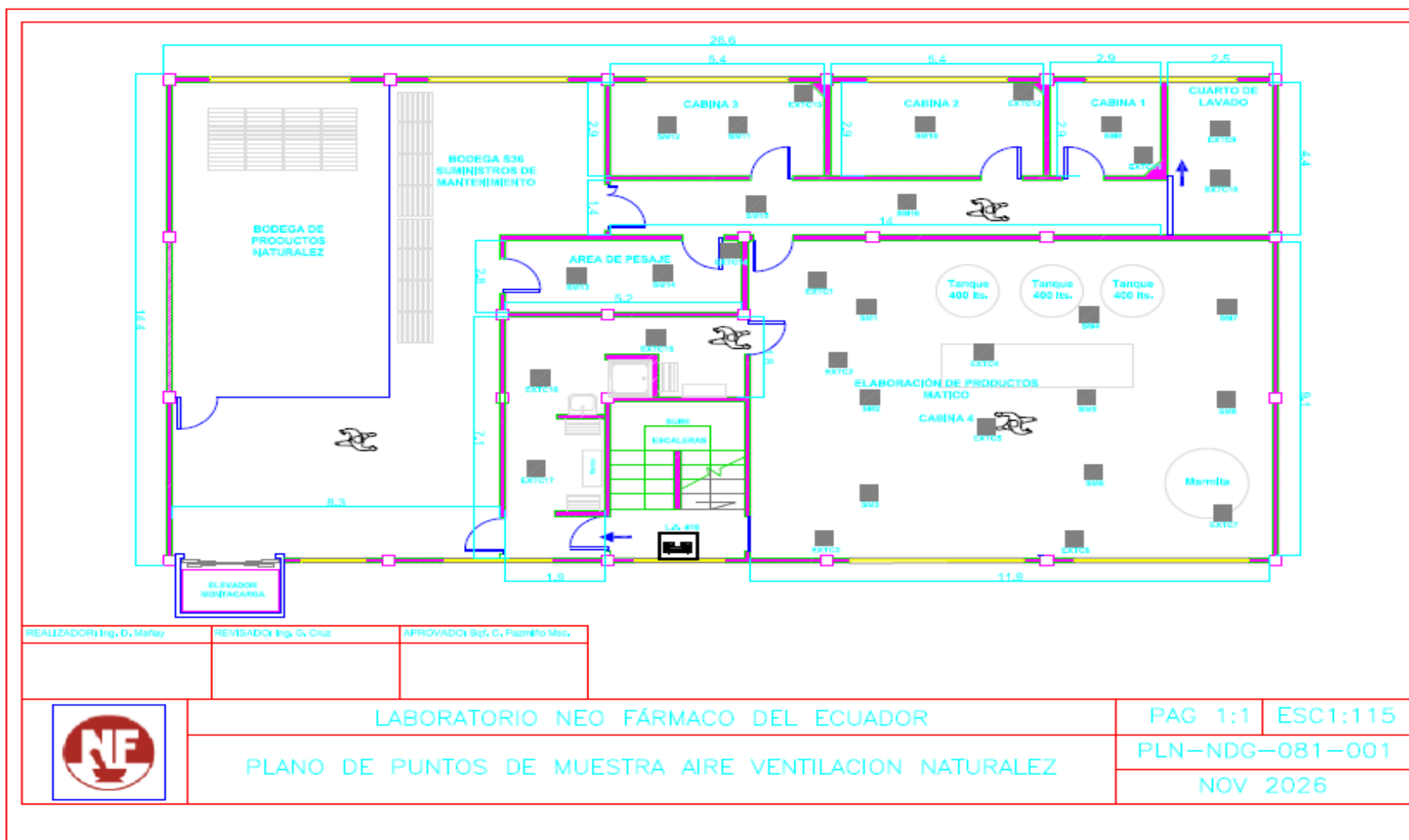


Figura 29. Plano de los puntos de muestra de aire y ventilación naturales