

29  
2 g.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

ESCUELA NACIONAL DE ESTUDIOS PROFESIONALES

"ZARAGOZA"

"IDENTIFICACION DE PARTICULAS EXTRAÑAS  
EN UN PRODUCTO PARENTERAL"

TESIS RECEPCIONAL

QUE PRESENTA:

ROSA ESTELA LAZO JIMENEZ

PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

**TESIS CON  
FALLA DE ORIGEN**



## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## INDICE

Resumen	1
I. Introducción	3
A. Reseña histórica	8
B. Antecedentes	10
II. Justificación del Tema	18
A. Objetivos	19
B. Hipótesis de Trabajo	20
III. Material y Método	21
A. Material	23
B. Método	29
C. Filtración Simple	33
D. Preparación de las Muestras para observación directa en el microscopio	35
E. Planteamiento de Identificación de partículas extrañas en un liofilizado	37
F. Relación del material observado y estudio al microscopio	40
IV. Resultados	53
V. Discusión	63
VI. Conclusión	70
Láminas	72
VII. Bibliografía	85

## Resumen

Este trabajo nació y se desarrolló en relación al desafío científico, técnico e industrial de resolver el problema de contaminaciones en un producto farmacéutico, Liofilizado de hemisuccinato de hidrocortisona. La advertencia inicial de los frascos viales contaminados se realizó bajo su observación directa después de su reconstitución líquida a la luz incidente.

Los frascos viales contaminados, después de reconstituido su contenido se sometieron a técnicas de aislamiento de los contaminantes mediante la filtración por membrana de poro 0.22 micras, seguida de desecación de la membrana y sus residuos. El material así aislado se colocó, con todos los cuidados requeridos, mediante agujas de cristal y pinzas ultrafinas y bajo microscopio estereoscópico, entre porta y cubreobjetos de cristal. Las preparaciones así construídas se sellaron por sus bordes en una mezcla de cera de abejas y parafina con punto de fusión de 60<sup>o</sup>; otras preparaciones se sellaron con barniz de uñas (Acetatopropionato de celulosa).

Los contaminantes iniciales se reconocieron como de tres dife-

rentes clases y mediante un estudio al microscopio y bajo diferentes sistemas ópticos (Campo Claro, Campo Oscuro, Campo de Luz Polarizada, Contraste de Fases, Contraste Diferencial de Interferencias y Fluorescencia a la Energía Ultravioleta) se determinaron sus características óptico-fotónicas más notables. A continuación se procedió al estudio microscópico, en la manera descrita, de todos aquellos otros materiales comprometidos o vinculados con el proceso de producción del fármaco. Se estudiaron 98 diferentes muestras de materiales para ser comparados con nuestros tres contaminantes iniciales. Nunca se pretendió conocer la naturaleza química de los materiales, todo el interés se virtió en el estudio morfológico de ellos y mediante microfotografías en condiciones comparables, se procedió a cotejar todo el material de análisis con las imágenes de nuestros contaminantes. El trabajo se ilustra con 70 microfotografías de un conjunto de más de 300 microfotografías. La identificación por comparación fué definitiva e indiscutible. Una vez conocidos los materiales, ahora sí, por su procedencia, se identificaron como Papel Glasin, Fibras de Algodón mezcladas con filamentos plásticos derivados de la textura de algunas batas y Filamentos de Asbesto de los guantes termoprotectivos empleados durante la esterilización.

## I. INTRODUCCION

Dentro del amplio y muy variado conjunto de recursos terapéuticos con los que cuenta la medicina, la administración de sustancias por vía parenteral, en el torrente sanguíneo, tiene una muy especial y valiosa aplicación.

La terapia parenteral, en particular por vía sanguínea, es universalmente utilizada debido a las ventajas de la acción rápida del medicamento que se distribuye por el torrente sanguíneo llegando al sitio de acción con mayor brevedad que cualquier otra forma de administración farmacéutica. La vía parenteral (para = a un lado y enteron = intestino), se refiere prácticamente a la administración del fármaco por inyección bajo la piel o las membranas mucosas, salvando las primeras barreras naturales de protección del cuerpo, alcanzando las masas musculares, adiposas, cavidades viscerales naturales (peritoneo, pleura, pericardio, sinovial, entre otras) y desde luego, la vía sanguínea. Se comprende que en estas circunstancias, los compuestos que se administran por esta vía deben ser sustancias no agresivas a los tejidos y al organismo, estar libres de cualquier tipo de contaminación química, física y biológica, lo que se traduce en la

necesidad de una alta calidad del producto.

Los fármacos de administración parenteral deben, por lo tanto, cumplir con estrictos controles asépticos en todos los aspectos de la producción farmacéutica, lo que representa mayor seguridad y eficiencia para el consumidor. Estos controles se contemplan en las recomendaciones contenidas en las "Actuales Buenas Prácticas de Manufactura" que se incluyen en el Código Federal de Regulaciones (CFR).

Entre los controles de calidad que se realizan y exigen a un producto parenteral figuran: a) libre de todo microorganismo, b) libre de pirógenos, c) no contener materia extraña que afecte a la transparencia del compuesto o produzca turbidez a la solución, y d) contener sólo el o los elementos farmacéuticos de la fórmula.

La USP XXI (última publicación de la Farmacopea de los Estados Unidos de América) en revisiones continuas y actualizadas establece los requerimientos para estas pruebas y considera a la materia extraña como un contaminante móvil, insoluble y no intencionalmente presente en el producto.

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Quinta edición (1988) dice, \*Las soluciones acuosas inyectables preparadas por el fabricante o en el momento de emplearse, cuando son examinadas bajo condiciones adecuadas de visibilidad, deben ser límpidas y sin partículas en -

suspensión, aún después de agitarlas.

Sobre el problema que representa este tipo de materias extrañas como contaminantes de productos parenterales, es a lo que se va a referir este trabajo como respuesta a una experiencia vivida con una contaminación a un producto liofilizado de pequeño volumen.

El resultado de numerosas investigaciones sobre el problema de los contaminantes en los productos de aplicación parenteral ha sido informado desde sus inicios por Garvan y Gunner (20), los cuales encontraron que las partículas en soluciones parenterales presentaban riesgos para la salud; posteriormente Turco (38), recopiló varias investigaciones acerca del significado clínico, entre algunos efectos, se observó que después de la administración intravenosa de una solución con partículas se presentaba una embolia en órganos vitales, estos eventos reflejaron un considerable interés sobre los pasos del proceso de producción y empezaron a investigar las diferentes fuentes potenciales de contaminación en el desarrollo del producto, encontrando que estas variaban mucho de un laboratorio con otro, por las diferentes condiciones de producción de cada laboratorio, existiendo estandarizaciones generales para todos ellos.

Aún con la modernización y el alto nivel tecnológico en la industria farmacéutica, la contaminación por partículas extrañas es uno de los problemas actuales, especialmente en el proceso de soluciones liofiliza-

das de pequeño volumen.

Una contaminación de este tipo repercute de muy variadas formas sobre la seguridad del consumidor, la salud del paciente, la integridad del producto, los controles establecidos en producción y sobre los costos por pérdidas económicas que lleva consigo un lote rechazado.

Al principio las partículas se detectaban por observación a simple vista, después con la ayuda del microscopio.

El adelanto de la tecnología permitió que la revisión rutinaria fuese más rápida en las soluciones inyectables y se incrementaron muchos y diferentes instrumentos electrónicos utilizando los principios de bloqueo y de absorción de luz. También se empleó la resistencia eléctrica para obtener, detectar y estimar la cantidad de partículas, así como su distribución y tamaño; sin embargo, el saber que el producto presentaba contaminación no revelaba qué tipo de contaminación era la que estaba presente en la solución parenteral, ni de que fuente provenía.

Finalmente, con el microscopio no sólo es posible observar y descubrir partículas, sino que también se puede intentar el conteo y la identificación de dichas partículas extrañas, sobre todo con la ayuda de los modernos Sistemas ópticos, tales como el Campo obscuro, el Contraste de fases, la Luz polarizada, la Interferencia policromática, el Contraste diferencial de interferencias y la Fluorescencia espectral a la Energía ul-

travioleta. Los resultados son novedosos, de alta confiabilidad y comparables a los resultados que se obtienen con otros métodos, como el Micro análisis o el Video de imagen con circuitos electrónicos, con la ventaja de ser más accesible al personal de control de calidad, proporcionándonos - información sobre la fuente potencial de contaminación.

## A. Reseña histórica

Se debe a Hopkins (20), una revisión histórica sobre el principal acceso a la vña sanguínea y el inicio de la terapia parenteral. En 1492, - se realizó por vez primera una transfusión de sangre de dos niños jóvenes al padre; el resultado fué castastrófico, el padre y los niños murieron vfc timas del terrible choque hemoclásico. Esto desanimó los siguientes intentos de penetrar al torrente sanguíneo, fué muchos años después, hasta 1628, cuando William Harvey, publicó su descubrimiento sobre la circulación de la sangre en el cuerpo humano, que volvió el interés por alcanzar la circulación sanguínea.

La primera inyección de un fármaco en venas de animales vivos fué en 1657 por Sir Christopher Wren, en una forma rudimentaria, sin precisar ni los instrumentos, ni los animales, ni el fármaco empleados.

La técnica para la inyección intravenosa se desarrolló muy lentamente durante los 150 años que siguieron. Los progresos realmente empezaron en 1853 cuando Charles Pravaz, físico francés, diseñó un tipo de aguja hipodérmica y en 1855, el Dr. Alexander Wood de Edinburgo describió una inyección subcutánea de fármacos con propósitos terapéuticos - -

usando una jeringa uniforme. A mitad del siglo XIX, se incrementó la administración de soluciones parenterales, debido entre otros trabajos a los de Roberto Koch, de Louis Pasteur y sobre todo de Paul Ehrlich, quien con sus ideas de la "Bala mágica", desarrolló la quimioterapia específica de arsenicales en la lucha contra la Sfilis, empleando la vía parenteral. Al mismo tiempo y como solución a un problema paralelo, Charles Chamberland, aplicó técnicas y recursos de esterilización a los productos destinados a aplicarse por vía parenteral.

En 1942, la Farmacopea de los Estados Unidos Americanos - - (USP-XII), admitió la primera preparación destinada para inyección parenteral.

Y en 1970, la USP XVIII, incluyó oficialmente alrededor de 200 - preparados inyectables por vía parenteral. En 1971, Davis y Turco dieron a conocer que en un año se aplicaron 75,000,000 de compuestos por vía parenteral y, en 1973, el mismo Turco, estimó que esta cifra se incrementó a más de 150,000,000 de fármacos parenterales.

Actualmente la terapia intravenosa es universalmente practicada y cada día aparecen nuevos y muy variados productos que se aplican por - vía parenteral.

## B. Antecedentes

Consideradas la esterilidad, la ausencia de pirógenos y la transparencia como características de calidad y pureza en un producto parenteral, éstas deben ser mantenidas durante el proceso de producción, proceso de acondicionamiento y almacenamiento, así como durante la administración del compuesto en el paciente; sin embargo, con frecuencia la posibilidad de contaminación en alguna de las diferentes partes del proceso de manufactura es más frecuente de lo que se podría suponer, especialmente en algunos procesos, como la liofilización.

La falta de una transparencia satisfactoria en soluciones inyectables es uno de los más frecuentes problemas en los productos parenterales liofilizados (31).

La liofilización es un importante método de producción en la preparación de varios compuestos parenterales; básicamente el proceso consiste en la sublimación del agua en estado de hielo a partir de una solución acuosa estéril congelada en un recipiente estéril y secada al vacío, resultando así una pasta seca o "pastel" de aproximadamente el mismo tamaño y forma de la masa original congelada. En estas condiciones es muy difícil, prácticamente imposible, discriminar a los frascos viales contamina-

dos de los libres de partículas extrañas, sólo contaminantes muy grandes y evidentes pueden ser advertidos en la pasta liofilizada; es hasta la reconstitución acuosa del producto cuando puede observarse en la solución la presencia de partículas u otro contaminante. Consecuentemente se han dirigido estudios especiales para la identificación de partículas para saber de qué fuente provienen y mejorar los controles en el proceso de producción.

El interés de una materia extraña presente en soluciones parenterales fué resaltado por dos físicos australianos, Garvan y Gunner, que empezaron a preocuparse por la gran cantidad de materia extraña presente en soluciones intravenosas. La observación se llevó a cabo revisando visualmente un recipiente con solución parenteral en una caja negra donde un rayo de luz vertical u oblicua iluminaba toda la solución, produciéndose así el fenómeno de Tyndall. Así se encontró que muchas muestras de cinco industrias estaban contaminadas con materia extraña. Estos descubrimientos se publicaron entre 1963 y 1964, atribuyendo que las fuentes de mayor potencial de contaminación se producían en: el tapón de hule, por algunas fibras de celulosa y por ingredientes de la formulación.

Los autores examinaron varias marcas de soluciones intravenosas producidas por Laboratorios Farmacéuticos en Australia, Inglaterra, Europa, Filipinas y EUA, encontrando tres tipos de partículas, con las

cuales condujeron unos experimentos en conejos, a los cuales se les inyectaron soluciones intravenosas contaminadas. Estudios necr6picos demostraron da±os pulmonares, observando granulomas en los pulmones de los conejos; algunos contenfan fragmentos de vidrio, el tap6n de hule y de celulosa (20).

En norteam6rica el inter6s estimulado por la informaci6n de Garvan y Gunner, origin6 que numerosos investigadores estudiaran el problema en forma similar y en 1966, la Administraci6n de F6rmacos y Alimentos (FDA) llev6 a cabo un Simposio en Washington D. C., sobre la seguridad de soluciones inyectables de gran volumen.

En 1968, Transen B. (36), propuso el uso de membranas con microporos para la filtraci6n en varios pasos del proceso de producci6n.

A partir del mencionado Simposio varios investigadores sumaron la informaci6n relacionada al significado cl6nico de la materia extra±a en soluciones parenterales, para lo cual relacionaron varias formas de detecci6n, medici6n, conteo e identificaci6n, asf como la forma de reducirla en las operaciones de producci6n.

En 1972, Nicholson W. (30), inform6 que la naturaleza de la contaminaci6n por partfculas extra±as indeseables en un producto es muy variada, adem6s de las ya mencionadas, 6l observ6 al microscopio fibras de asbesto como contaminante de un producto parenteral.

En 1973, Turco S. (38), recopiló varias investigaciones sobre el significado clínico y las posibles fuentes de contaminación y métodos para su detección. Turco empleó el microscopio para la identificación de las partículas (57).

En 1974, Hopkins G. (20), y otros (32, 37), trataron de correlacionar el método del microscopio con los demás métodos instrumentales - para el conteo e identificación de partículas extrañas en las soluciones parenterales; las lecturas de ambos métodos resultaron comparables.

En el mismo año Drafz. R. (12), realizó una identificación y conteo de partículas extrañas contenidas en soluciones parenterales, mostrando algunas microfotografías de contaminantes presentes en el producto y la forma como obtuvo sus muestras estándar y el sistema óptico que utilizó (luz polarizada).

En 1978, Flaum I. (45), realizó una recopilación de varias publicaciones abocadas al problema de la contaminación de productos farmacéuticos, involucrando etapas de producción, control y de distribución, clasificó la naturaleza de los contaminantes en: contaminación mecánica, química y microbiológica. Sugirió para la prevención un mejor control de los siguientes factores: áreas de producción, personal de elaboración, ruta de materiales, pasos del proceso, formulación y control establecido, añadiendo envases y equipo, resaltando las características que cada uno de los

factores mencionados debe tener.

Whyte W. en 1979 (40), informó que las posibilidades teóricas - incluían cualquier material que tuviera influencia en el cuarto limpio o -- área aséptica y al cual el producto estuviera expuesto; él mismo (41, 42), en 1981 y 1984, describió los resultados de una serie de investigaciones - en cinco áreas de producción farmacéutica que fabricaban productos inyectables con esterilización terminal, indicando que la contaminación por partículas extrañas se encontraba en los envases y en sus cierres, especial- mente después de la esterilización, recomendó el uso de filtros de aire - de alta eficiencia (HEPA) en las áreas de producción.

En 1980, Couriel B. (7) y Seager más tarde (34), mostraron deta- lles sobre la manufactura de productos liofilizados. También Flamber D. (14), después, retomando lo anterior realizó algunas consideraciones en el proceso de productos parenterales liofilizados y mencionó que había una menor contaminación por partículas extrañas y microbianas por este mé- todo de producción comparado con otros.

Yokoyama H., et al. en 1980 (43), examinaron 116 medicamentos de soluciones inyectables, que contenían vitaminas, anestésicos, diuréticos, etc. y se pensaba que estaban contaminados por microorganismos. El contenido del fármaco reveló estar dentro de los requerimientos de la Farmacopea Japonesa. Sin embargo, 22 de las 116 muestras contenían conta-

minantes tales como fibras ( 150 u) y las partículas de vidrio.

En el mismo año Schroeder H. y De Luca P. (33), informaron algunos aspectos teóricos del estudio de materia extraña por medio del microscopio y métodos instrumentales.

En 1980, De Luca P. (8, 9), propuso algunos lineamientos para la identificación de partículas extrañas contenidas en cualquier producto parenteral; estos fueron aceptados por la FDA; los lineamientos estaban basados en técnicas aplicadas por McCrone en 1973. De Luca describió procedimientos para la identificación y caracterización de las partículas extrañas por medio de técnicas microscópicas, mostrando valiosas imágenes en sus resultados. En 1983, retomó lo anterior y mencionó las siguientes técnicas de identificación para partículas subvisibles: Microscopía óptica, Microscopía electrónica, Análisis de dispersión con rayos X, Microanálisis químico y difracción de rayos X.

En 1982, Heuse (19), y otros (12, 46, 56), realizaron una identificación de fibras textiles por un método no destructivo, microscopía de interferencia, con el que clasificó algunas fibras, paralelamente usó luz polarizada.

En el mismo año Knapp J. (22, 25) y Kushner H. (23), informaron sobre la utilidad de sistemas automatizados de inspección para materia extraña. Ellos mismos en 1982, informaron a partir de lo anterior expues

to y con un modelo de probabilidades, que las muestras de pequeño volumen utilizadas en pruebas destructivas de la contaminación por partículas insolubles en lotes de producción, conducen a resultados variables.

En 1983, Knapp de Z. and Thompson B. et. al. (24), mostró una zona de rechazo para mediciones físicas, usando holografía de transmisión (método no destructivo), en la observación de partículas extrañas en productos parenterales.

En 1985, Dean D. (11), informó que la materia extraña en productos estériles se generaba principalmente durante las operaciones de envasado de la materia prima, en cualquier punto de su proceso de empaque y embalaje y en su utilización en la producción del producto final. Mencionó las características de tres materiales usados con más frecuencia para empaque de productos estériles: vidrio, plástico y tapón de hule, relacionándolos como fuentes de contaminación. Agregando que las partículas provenientes de la superficie pueden ser originadas por fricción, corrosión, erosión, y por efecto de solventes o procedimientos de limpieza.

Todos estos eventos reflejaron un considerable interés sobre los pasos de manufactura y, en las autoridades, la necesidad de crear "estandarizaciones", ya que Avallone en 1985 (1), y Luna C. (28) en 1986, indicaron que el problema se debía a las pocas facilidades designadas en las instalaciones, a la inadecuada operación del proceso de producción, a la

carencia de comprensión y entrenamiento de esta responsabilidad para la preparación y uso de parenterales.

En 1986, De Luca P. (10), realizó un control microscópico de 50 medicamentos inyectables, comerciales, de 5 diferentes tipos de envases revelando que contenían partículas en cantidades diferentes.

También en 1986, Borchert S. et. al. (3) y otros (17) informaron sobre varios aspectos de materia extraña en productos parenterales que incluían uso y limitaciones de la inspección, técnicas de conteo de partículas visibles y subvisibles, su identificación por varios métodos (microscópicos, técnicas de espectroscopía atómica, métodos de espectroscopía molecular y cromatografía) y explicación sobre las fuentes potenciales de partículas, mecanismos de formación y técnicas de reducción de los contaminantes.

Por lo expuesto se advierte que cada vez aumenta el interés por detectar e identificar las partículas que contaminan un producto, (2) ya -- que de esta forma se puede aplicar un mejor control al proceso de producción. Avallone H. (1), recomendó que la mayoría de los fabricantes de -- productos inyectables debían saber específicamente de dónde provienen algunos tipos de materia extraña.

## II. Justificación del Tema

El interés por este tema nació de la presencia de una situación - real, de un problema de contaminación en un producto de administración parenteral.

De entre los numerosos y variados métodos que se han empleado y a los cuales se recurre aún con frecuencia, y recomendados por De Luca en 1980 y 1983 en base a lo propuesto por Mc Crone, en 1973, y entre los que figuran el Microanálisis espectral molecular, la Holograffa, la Cromatograffa y la espectroscopía atómica, me consideró oportuno aplicar la Microscopía fotónica.

El material de los frascos contaminados fué sometido a la observación con el microscopio de luz y sus principales sistemas ópticos.

### A. Objetivos

1. El objetivo principal consiste en aislar el contaminante del producto en los frascos que lo contienen.
2. Determinar las propiedades morfológicas y ópticas de el o los contaminantes, mediante el empleo del microscopio y sus modernos sistemas ópticos.
3. Establecer con microfotografías las imágenes características de las muestras contaminantes.
4. Estudiar microscópicamente y registrar con microfotografías las imágenes características de todos aquellos materiales comprometidos en la línea de producción del medicamento.
5. Por comparación entre las imágenes de los contaminantes con las de los materiales en la línea de producción, establecer la identidad y origen de los contaminantes problema.

## B. Hipótesis de Trabajo

La hipótesis para el desarrollo de este trabajo se basó en la consideración de que la Microscopía moderna, ofrece mediante los variados sistemas ópticos posibilidades de investigación cuantitativa y cualitativa - derivados de la observación directa de los contaminantes. Las imágenes obtenidas son susceptibles de registrarse microfotográficamente, lo que - permite estudios comparativos que facilitan la formación de archivos de identificación y comparación.

De manera que aplicadas estas técnicas de investigación a las -- partículas extrañas que contaminaban el liofilizado (F-500), podremos, -- una vez conocido y caracterizado el material contaminante, establecer un patrón morfológico con el cual comparar e identificar o descartar en su caso, las posibles sustancias contaminantes procedentes de aquellos sitios y elementos que por rutina participan en la elaboración del F-500.

### III. Material y Método

El estudio de un frasco vial con solución parenteral contaminada se empieza por revisarlo visualmente en un sistema de inspección, ya sea manual o semiautomático, desarrollado para la detección de partículas extrañas utilizando el principio de la iluminación tangencial según Tyndall (17). De esta manera al observar en forma directa y cuidadosa la solución de 190 frascos viales procedentes de diferentes lotes con el liofilizado reconstituído, se logró observar partículas, en su mayoría pequeñas fibras, en 15 casos. Este hecho se confirmó al observar la solución en un microscopio invertido donde las fibrillas insolubles, de color blanco, casi transparente, brillaban con la luz que incidía en ellas.

El interés por conocer la naturaleza de las fibras y saber de donde provenían, motivó a separarlas de la solución parenteral por medio del método de filtración en membrana, de acuerdo al método de De Luca (8), entre otros (12, 32, 57), y poder aislar a cada fibra en una preparación - por separado para proceder, así, a identificarla. Siendo este el principal objetivo se recurrió al método de identificación de partículas en soluciones parenterales, según De Luca (8), así como a su estudio al microscopio.

pio fotónico (12, 49). Estos métodos requieren para su desarrollo, de material de comparación (partículas extrañas), las cuales debieron de seleccionarse del área de manufactura del producto liofilizado F-500 y de las posibles sustancias contaminadas procedentes de aquellos sitios y elementos que por rutina participan en la elaboración del F-500. Como se comprende fue necesario verificar algunos otros factores en torno a la producción como fueron instalaciones, equipo y personal, entre otros, así como la ruta de flujo del proceso en el área de manufactura de los compuestos inyectables.

Con esta descripción del método de trabajo, nuestro material estuvo constituido por: 1. Material general, 2. Equipo, 3. Reactivos.

## A. Material

### 1. Material General

- Batas, cofias, cubrebocas, escafandras, guantes de cirujano, overoles y botas.
- Porta y cubreobjetos, cajas de Petri de diferentes tamaños.
- Matraces Erlenmeyer y vasos de precipitado de diferentes capacidades.
- Jeringa de 10 ml. con accesorios para filtrar.
- Agujas de disección y con punta de tungsteno.
- Pinzas para la membrana de filtración y pinzas muestras.
- Lienzo y esponjas limpias compactas.
- Charola de aluminio y bandeja de lavado de plástico.
- Aguja de varilla de vidrio.
- Triángulos de varilla de vidrio.
- Embudos de filtración con sus bases y pinzas.
- Membrana de filtración de nitrato de celulosa de 0.2 u y 0.45 u, diámetro de 47 mm. y 13 mm, MFS.
- Marcador de vidrio.
- Destapador de frascos viales.
- Rollos Kodacolor e Ilford Pan-F de 35 mm.
- Barniz de uñas transparente (celulosa acetopropional, Resina sintética (Alkyd) y solvente).

### 2. Equipo

- Instalaciones del área de producción de parenterales.
- Un área de trabajo clase 10,000.
- Lámpara de inspección con fondo negro y blanco.
- Campana de flujo laminar Veco, unidad: GUFL-B18, velocidad de flujo - 90 20 ft/min, clase 100.
- Unidad de filtración completa.
- Unidad de aire acondicionado Gilvert-Copeland 34667.

- Microscopio Estereoscópico Carl Zeiss.
- Fotomicroscopio Carl Zeiss equipado con diferentes accesorios para cada sistema óptico.
- Ocular calibrado en micras.
- Cámara para conteo hemocitológico Neubauer.

### 3. Reactivos

- Agua tratada (agua bidestilada y filtrada finalmente por membrana de poro 0.2 u y revisada por inspección visual).
- Alcohol isopropílico, alcohol etílico, benzal y acetona R.A.
- Cera de abeja y parafina R.A.
- Jabón, soluciones germicidas (rocal, saydes).

### 4. Muestras

- Muestras del producto liofilizado a granel (F-500), de diferentes lotes.
- Fibras y materiales derivados de los sitios y del personal que están en las áreas de preparación y manejo del producto en estudio.
- Materiales y soluciones usadas en la línea de producción de las soluciones inyectables.

### 5. Accesorios para el Sistema Optico de Campo Claro

- Condensador Simple Apocromático.
- Objetivos Carl Zeiss: 2.5/0.08X, Plan 6.3/0.16X, 10/0.2X, 16X, 25X, 40X.
- Oculares Carl Zeiss Kpl W 12.5X.
- Fuente de energía fotónica (filamento de tungsteno).

#### 6. Accesorios para el Sistema Optico de Campo Oscuro

- Condensadores: Karдиоide, Paraboloide y Thoroide.
- Fuente de energía fotónica.
- Objetivos: los mismos citados anteriormente.

#### 7. Accesorios para el Sistema Optico de Contraste de Fases

- Filtro verde (530nm) C. Zeiss.
- Condensador Heine de Contraste de Fases pH: 1, 2, 3.
- Objetivos pH: 1, 2, 3, (10X, 16X, 25X, 40X).

#### 8. Accesorios para el Sistema Optico de Campo de Luz Polarizada

- Mismos accesorios del Campo Claro más ...
- Polarizador  $0^{\circ}$ - $180^{\circ}$  Carl Zeiss.
- Analizador  $90^{\circ}$ - $270^{\circ}$  Carl Zeiss.

#### 9. Accesorios para el Sistema Optico de Contraste Diferencial de Interferencias

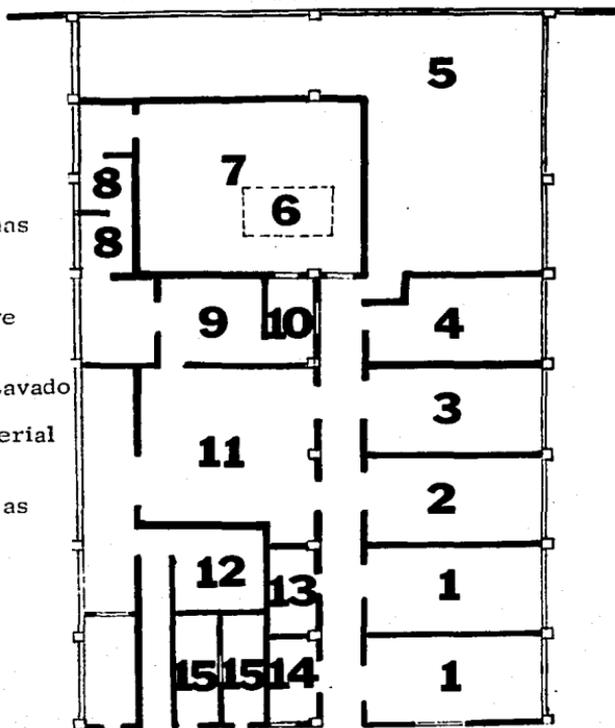
- Filtro de polarización  $0^{\circ}$ - $180^{\circ}$ .
- Condensador especial con cuñas de Wollaston I, II, III.
- Filtro analizador variable.
- Objetivos pH: 1, 2, 3, Neufliar 16 X y 40 X.

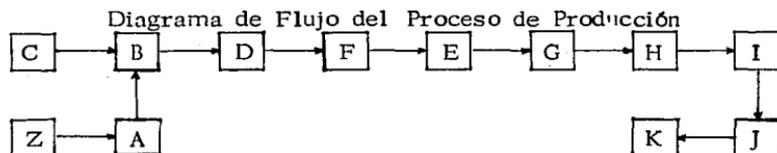
## 10. Accesorios para el Sistema Optico de Fluorescencia Espectral

- Fuente de energía de rayos UV, lámpara de ionización de mercurio HBO 200 w/4.
- Filtros de excitación.
- Filtros de selección.
- Objetivo Neofluar.
- Condensador de Cuarzo.

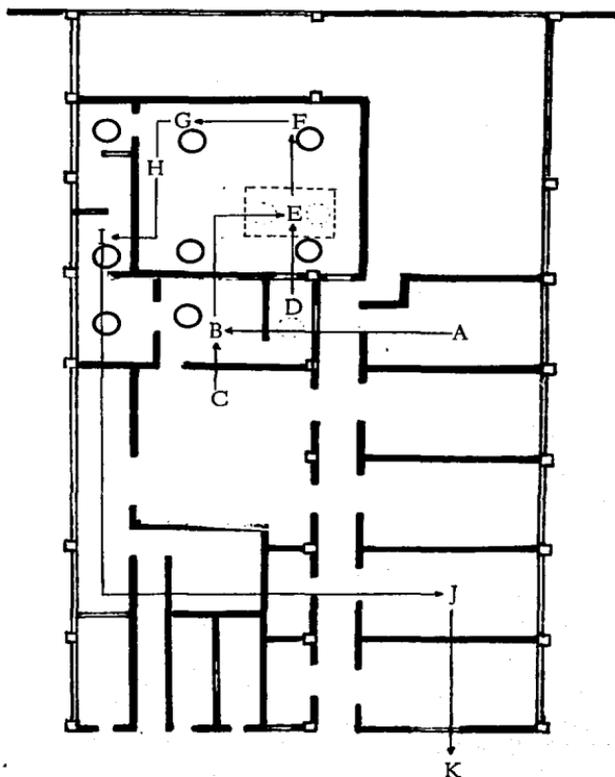
## INSTALACIONES

1. Revisión Visual
2. Lavado Externo
3. Destilador
4. Lavado Interno
5. Cuarto de Máquinas
6. Area Aséptica
7. Area Limpia
8. Vestidores
9. Horno y Autoclave
10. Preparación de Soluciones
11. Preparación y Lavado del Material
12. Almacén del material
13. Rotulado
14. Supervisión
15. Rotulación de cajas





- . Filtros HEPA, medio ambiente controlado.
- Z. Limpieza y sanización de las áreas limpia y aséptica.
- A. Lavado interno de frascos y tapones.
- B. Esterilización en horno y autoclave.
- C. Preparación del material (equipo de filtración, Uniformes, garraones de vidrio, accesorios de la máquina de llenado).
- D. Preparación de la solución. Unidad de filtración.
- E. Llenado y semitaponado de la solución de hidrocortisona.
- F. Liofilización, cámara F-150.
- G. Taponado de los frascos con el producto.
- H. Engargolado.
- I. Muestreo.
- J. Revisado.
- K. Almacen a granel.



## B. Método

Cuando se advirtió que el contaminante consistía de pequeñas fibras, se inició la tarea de identificarlo y detectar la fuente de contaminación, para lo cual se elaboró un diagrama de las posibles fuentes de contaminación por fibras (pelusas) que tuvieran alguna relación con el producto.

Inicialmente se revisó el aire acondicionado del área limpia de producción de inyectables, pensando que los filtros no estaban purificando adecuadamente el aire que llegaba hasta las áreas limpia y aséptica donde se realiza como paso crítico el llenado de la solución y manejo del producto ya liofilizado. Esto no fué fácil ya que se tuvo que realizar algunas pruebas para determinar si los filtros estaban en buenas condiciones (generalmente las que menciona y exige el CFR). Con la ayuda de los Departamentos de Producción y Mantenimiento, se logró que se cambiarán los filtros HEPA (16) y se mantuviera un control más estricto en este punto; de los filtros y prefiltros desechados se tomó también algunas muestras. La toma de las muestras se realizó en condiciones asépticas utilizando (bata, cofia, cubreboca, guantes, pinzas y tijeras). En un frasco limpio, etiquetándolas para realizar una observación directa al microscopio; dichas muestras

se denominaron "muestras problema" y se les numeró para su observación y comparación con los catálogos de partículas contaminantes (Muestras - Control).

Lo anterior comprendió una amplia revisión de las instalaciones - (pisos, techo, paredes y conductos que llegan a conectarse a las áreas lim pia y aséptica) así como las condiciones en las que están trabajando.

Siguiendo la ruta de flujo del proceso se fue obteniendo diferentes materiales como los que se usan para envolver los accesorios de máquina llenadora, de los taponos que han sido lavados y esterilizados por calor húmedo, de los guantes de cirujano, de las esponjas y soluciones con que se realiza la limpieza y "sanitización" del área; en fin, de todo del material que entra al autoclave y que se protege generalmente con dos tipos de papel, el papel Glasin y el papel Kraft, así como otras muestras de material que entra y rodea a las áreas limpia y aséptica.

También se tomaron muestras de las cajas de cartón, en que vienen empacados los frascos viales y taponos, así como de los diferentes -- pasos del proceso de lavado, desde el momento de pasar los frascos a las charolas de acero inoxidable, después a la máquina lavadora de frascos, - del agua con la que se lavan, del horno donde se esterilizan, de los guantes especiales para el horno, hasta que están colocados en el área aséptica listos para ser llenados.

En estos momentos se observó los movimientos del personal en los pasos críticos puesto que constituyen una gran fuente de fibras por el uniforme que usan en la elaboración del producto, el cual consta de las siguientes piezas: cofia, cubreboca, escafandra, overol, botas y guantes de cirujano que les protegen las manos y antebrazo y evitan desprendan fibras en forma directa cuando manejan el producto. Sin embargo no dejan de ser una fuente de contaminación por lo cual se tomaron muestras de cada pieza del uniforme con el fin de certificar si estas fibras están o no presentes en el producto.

A partir de este procedimiento de recopilación de muestras y observación del manejo del producto por el personal, se decidió realizar un estudio de estos materiales para despejar la incógnita de cuál de ellos se presentaba con mayor frecuencia en el producto como contaminante principal, así se planteó el problema de separar y estudiar las fibras contenidas en la solución del liofilizado reconstituido, por lo que se recurrió a algunos lineamientos aconsejados por De Luca (8) quien trabajó en la identificación de partículas extrañas en parenterales, no necesariamente fibras. Con algunas modificaciones se logró realizar la separación, entre las técnicas que se siguieron y pueden ampliarse (8) figuran: limpieza del equipo y lugar donde se va a trabajar; montaje del filtro membrana; preparación de los filtros blanco; preparación de los filtros para el producto parenteral;

así, como la preparación de la muestra del producto liofilizado y, como paso importante la filtración en membrana, la cual se mencionará brevemente.

A partir de este punto la muestra se trató con diferente criterio al de De Luca y se aplicó las Técnicas de Microscopía Moderna.

### C. Filtración Simple

La filtración simple por membrana fué un paso muy importante en este trabajo y fué realizado con el mayor cuidado posible, ya que las fibras que quedaron retenidas sobre la superficie de la membrana son las principales muestras (patrón) en nuestro trabajo por lo cual se debe evitar cualquier otro contaminante.

Brevemente el método consistió en separar los frascos viales contaminados. Cuando se realizó la revisión visual, éstos fueron limpiados por el exterior perfectamente y enjuagados por último en agua tratada (8). Así mismo se corrió un blanco testigo con las mismas condiciones.

Trabajando en un módulo de flujo laminar con el equipo necesario para la filtración, antes de transferir la solución de las muestras al embudo de filtración, suavemente se agitó la solución por diez segundos para resuspender las partículas. Se evitó introducir la solución directamente sobre la superficie de la membrana, por lo cual primero se cubrió la superficie con pocos milímetros de agua tratada, deslizándola por las paredes del embudo, luego se hizo lo mismo con la solución de cada vial; este paso se realizó rápidamente porque con el tiempo puede haber degradación del principio activo, el cual es insoluble en agua y queda cristalizado en la

membrana; se aplicó, vacío con las precauciones dadas por De Luca.

Después de la filtración se retiró el vacío, con la ayuda de unas pinzas se removió la membrana filtro y se colocó en una caja de Petri que se dejó secar en la cubierta del módulo de flujo laminar con la tapa ligeramente entreabierta.

El sedimento retenido en la superficie de la membrana se revisó directamente con un microscopio estereoscópico y se eligieron las fibras que finalmente se montaron, para el seguimiento en el estudio de identificación.

#### D. Preparación de las muestras para observación directa en el microscopio.

Del sedimento que quedó retenido en la membrana de filtración se tomó con una aguja de disección con sumo cuidado una fibra y se colocó en medio de un sistema porta y cubreobjeto, se selló con barniz de uñas - - transparente en unos casos y con una mezcla fundida de cera de abejas y parafina, en otros. Estas preparaciones se rotularon cada una con sus - respectivos datos de identificación (fecha, lote, condiciones de filtración y montaje), de esta manera se registraron en una lista con un número y cada una formó parte del grupo de muestras Patrón.

Al realizar estas preparaciones fué importante tener cubreboca, cofia, guantes de cirujano, una lámpara, un microscopio estereoscópico o lupa, triángulos de vidrio y alcohol, y realizar las maniobras en el (módulo de flujo laminar) para evitar corrientes de aire que harían perder fácilmente la muestra; los cubre y portaobjetos estaban perfectamente limpios y revisados a través de un rayo de luz tangencial, con el fin de certificar que no llevaba algún otro contaminante.

Las muestras problema que fueron las recolectadas en los obje-

tos y lugares que estaban en relación directa e indirecta con las áreas limpias y asépticas, recibieron un tratamiento similar; sin embargo, aquí las fibras no estaban separadas y se necesitó de pinzas y aguja de disección para realizar una buena separación de ellas mismas, evitando los aglomerados, pues dificultaban la observación y caracterización de cada fibra. Con la ayuda del microscopio estereoscópico se separaron y se eligieron las fibras más representativas de cada caso.

### E. Planteamiento de identificación de partículas extrañas en un liofilizado.

A partir del liofilizado como producto terminado (P), que contiene materia contaminante ( $C_1, C_2, \dots, C_n$ ) o partículas extrañas, se requiere para su identificación, aislarlas del producto para su observación en el microscopio. Una vez que cada partícula está en una preparación, - como ya se describió anteriormente, se registran y con ellas se forma una lista para comparación. Este material contaminante en conjunto se observó y estudió con diferentes sistemas ópticos con el objeto de conocerlo y caracterizarlo, así como verificar y observar si hay repetibilidad en las muestras de los diferentes lotes de una misma contaminación, o si se trata de un contaminante ocasional.

Realizadas las preparaciones del material contaminante, la caracterización microscópica de las partículas, se hizo describiendo su morfología y sus propiedades ópticas en los siguientes sistemas ópticos: Campo claro, Campo oscuro, Contraste de fases, Luz polarizada, Contraste diferencial de interferencias y Fluorescencia espectral. La descripción detallada proporcionó información acerca del tipo de contaminación exis-

tente, con lo cual pudimos saber, cuantas partículas contaminantes habfa- en el producto, cuál fué el contaminante principal, la frecuencia con que se presentaron dichas partículas; así se separaron las fibras más representativas para establecer el patrón de comparación.

De las imágenes observadas directamente en el microscopio se hi cieron microfotografías y de esta forma se estableció un patrón de comparación objetiva, el cual ayudó a buscar de entre las fibras problema (materiales usados en la producción del liofilizado), la identidad de alguna de ellas o varias con el patrón.

La realización de las muestras problema se hizo con diferentes - materiales (de 20-30) que se usan por rutina en la elaboración del producto, literalmente todo lo que rodea al área aséptica, este material también se numeró en forma progresiva formando un catálogo con los registros mi crofotográficos de los diferentes materiales, con lo cual se realizó el método de comparación e identificación.

## Plan de Identidad

Testigos  
de  
Identidad

C<sub>1</sub>

C<sub>2</sub>

C<sub>3</sub>

C<sub>4</sub>

.

.

C<sub>n</sub>

PATRON

Determinar las característi-  
cas morfológicas y sus pro-  
piedades ópticas.

Comparar de en-  
tre las sustancias  
PROBLEMA la  
IDENTIDAD  
de alguna de ellas  
(varias) con el

PATRON

F. Relación del material observado y estudiado  
al microscopio

El material fué dividido en dos grupos fundamentales:

A). Constituido por los materiales de contaminación, presentes y aislados de 24 frascos viales conteniendo el producto y derivados de 6 lotes (L-1, L-2, L-3, L-4, L-5, L-6).

B). Material derivado de 30 diferentes materiales conectados o relacionados con el producto, como: I) Papeles. II) Cartones de empaque. III). Filtros y prefiltros de las membranas de filtrado de la solución a granel. IV) Filtros y prefiltros del sistema de aire acondicionado. V) Filtros y prefiltros del módulo de flujo laminar. VI) Material fibrilar de textura de batas, overoles, escafandras, cofias, cubrebocas, botas y guantes de asbesto para el horno. VII) Algodón, lino, cáñamo, lona. VIII) Polvo ambiental, talco. IX) Este fué un grupo especial formado por los reactivos de producción del compuesto: Hidrocortisona base, Hemisuccinato de hidrocortisona, Fosfatos de potasio. X) Tapones, guantes de cirujano, esponjas de limpieza. XI) Celulosa de la planta de Ecatepec y pestañas, cejas y cabello de la cabeza.

El grupo A comprende 24 casos o muestras patrón; mientras que el grupo B esta formado por 98 muestras a comparar e identificar; se han denominado: Muestras problema.

### Grupo A

#### Muestras Patrón

1 y 2

Preparaciones del sedimento filtrado de 2 frascos que observan - contaminación por fibras de una muestra de 15 frascos del medicamento del lote L-1, montadas una en aceite de inmersión y la segunda en seco.

3 y 4

Preparaciones del sedimento filtrado de 2 frascos que observaban contaminación por fibras de una muestra de 15 frascos del medicamento del L-2, montadas, una, en aceite de inmersión y la otra, en seco.

5 a la 16

Preparaciones montadas en seco del sedimento filtrado de 12 fras-

cos que contenían contaminantes de una muestra de 30 frascos del liofilizado reconstituido, la filtración se realizó en membranas MFS de nitrato de celulosa, de superficie plana, blanca, de 0.22 u(47mm de D), del lote L-3.

#### 17 a la 22

Preparaciones del sedimento filtrado de 6 frascos que mostraron contaminación de una muestra de 20 frascos del liofilizado reconstituido, montadas en seco, la filtración se realizó en las condiciones ya mencionadas del L-4.

#### 23 a la 24

Preparaciones en seco del sedimento filtrado de 2 frascos que contenían contaminantes por fibras, respectivamente un frasco de cada lote - de una muestra de 20 frascos de liofilizado reconstituido, 10 frascos son del lote L-5 y 10 frascos son del L-6.

#### Grupo B

##### 1) Papeles

##### Muestras problema

1. Papel Kraft (envoltura de guantes de cirujano), montada en --

aceite de inmersión.

2. Papel Kraft (envoltura de guantes de cirujano), montada en seco.

3. Papel Kraft (envoltura de guantes de cirujano), montada en seco.

4. Papel Kraft (envoltura de guantes de cirujano), montada en seco.

15. Papel Glasin (envoltura de accesorios de la máquina llenadora CIONI, y en la esterilización en autoclave), montada en seco.

16. Papel Glasin (envoltura del material que entra al autoclave), montada en seco.

17. Papel Glasin (estéril de la envoltura de los accesorios de la máquina llenadora CIONI), montada en seco.

18. Papel Glasin (estéril, mismas condiciones de la 17), montada en seco.

62. Papel Glasin (envoltura del material que entra en el autoclave entre ellos los accesorios de la máquina CIONI), montada en seco.

63. Papel Glasin (mismas condiciones de la No. 62), montada en aceite de inmersión.

81. Papel Glasin (envoltura del material que entra al autoclave entre ellos los accesorios de la máquina CIONI), montada en seco, con ma-

yor separación de las fibras y con la ayuda del microscopio estereoscópico.

82. Papel Glasin (mismas condiciones de la No. 81), montada en seco.

83. Papel Glasin (estéril del material que entró al autoclave), montada en seco, con mayor separación de las fibras y con la ayuda del microscopio estereoscópico.

84. Papel Glasin (estéril, mismas condiciones de la No. 83), montada en seco.

## II) Cartones de empaque

13. Cartón (empaque de los frascos viales), montada en seco.

14. Cartón (empaque de los frascos viales), montada en seco.

35. Cartón (empaque de los tapones), montada en seco.

36. Cartón (empaque de los tapones), montada en seco.

85. Cartón (empaque de los tapones), montada en seco, con mayor separación de las fibras y con la ayuda del estereoscopio.

86. Cartón (empaque de los tapones), montada en seco, mismas condiciones que la anterior.

87. Cartón (empaque de los frascos viales) montada en seco con

mayor separación de las fibras.

88. Cartón (empaquete de los frascos viales), montada en seco con mayor separación de las fibras.

### III) Filtros y prefiltro de las membranas de filtración de la solución.

70. Partícula (tomada de la membrana de filtración de producción), montada en aceite de inmersión, poca actividad óptica.

76. Fibra (retenida en la membrana de filtración de producción), montada en aceite de inmersión.

### IV) Filtros y prefiltros del sistema de aire acondicionado.

71. Filtro HEPA (unidad de aire acondicionado), área limpia y aséptica), montada en seco.

72. Filtro HEPA (unidad de aire acondicionado, área limpia y -- aséptica), montada en seco.

80. Prefiltro (tomada del exterior), montada en aceite de inmersión.

### V) Filtros y prefiltros del modulo de flujo laminar

64. Prefiltro (modulo flujo laminar llenado), montada en seco.

65. Prefiltro (modulo de flujo laminar llenado), montada en aceite de inmersión.

93. Filtro HEPA (modulo de flujo laminar, llenado), montado en seco.

VI) Material fibrilar de textura de batas, overoles, escafandras, cofias, cubrebocas, botas y guantes de asbesto para el horno.

5. Bota suela (del uniforme utilizado en el área limpia y aséptica), montada en seco.

6. Bota suela (mismas condiciones de la No. 5), montada en seco.

7. Overol (uniforme del área limpia y aséptica), montada en seco.

8. Overol (mismas condiciones que la anterior), montada en seco.

9. Escafandra (pieza del uniforme de las áreas antes mencionadas, cubre la cabeza, cara y cuello), montada en aceite de inmersión.

10. Escafandra (mismas características de la 9), montada en seco.

11. Bota amarre (parte exterior uniforme del área limpia), montada en seco.

12. Bota amarre (parte exterior de la bota, uniforme del área limpia y aséptica), montada en seco.

19. Cubreboca (pieza del uniforme de las áreas ya mencionadas), montada en aceite de inmersión.
20. Coffa (mismas características de la No. 19), montada en seco.
21. Bata (utilizada en el proceso de lavado), montada en seco.
22. Bata (utilizada en el proceso de lavado), montada en seco.
37. Bata (No. 22 de color azul, usada por el inspector), montada en seco.
38. Bata No. 22 (iguales condiciones del No. 37), montada en seco.
39. Bata No. 15 (blanca, lavado interno de frascos), montada en seco.
40. Bata No. 15 (igual que la anterior), montada en seco.
41. Bata No. 20 (blanca, lavado interno de frascos), montada en seco.
42. Bata No. 20 (igual que la anterior), montada en seco.
43. Bata No. 7 (blanca, lavado interno de frascos), montada en seco.
44. Bata No. 7 (blanca, lavado interno de frascos), montada en seco.
68. Fibras de asbesto (guantes de autoclave y horno), montada -

en seco.

69. Fibras de asbesto (guantes de autoclave y horno), montadas en aceite de inmersión.

73. Overol (uniforme del área limpia y aséptica), montada en aceite de inmersión.

74. Bota suela (pieza del uniforme utilizado en el área limpia y aséptica), montada en aceite de inmersión.

75. Bata No. 7 (uso de los operadores), montada en aceite de inmersión.

89. Escafandra (pieza del uniforme del área aséptica), montada en seco.

90. Bata No. 22 (uso del operador), montada en seco.

91. Bota (uso de los operadores), montada en seco.

92. Overol (uniforme del área aséptica), montada en seco, mayor separación de fibras.

#### VII). Algodón, lino, cañamo, lona.

48. Algodón (hidrófilo, comprado), montaje en seco.

49. Algodón (hidrófilo, comprado), montaje en seco.

50. Algodón (tomado del laboratorio), montado en seco.

51. Algodón (tomado de cultivo de tejidos), montaje en seco.
52. Lino (muestra de comparación), montaje en seco.
53. Lino (muestra de comparación), montaje en seco.
54. Cñamo (comprado muestra de comparación), montaje en -  
seco.
55. Cñamo (mismas condiciones de 54), montaje en seco.
56. Cñamo (mismas condiciones de 54, diferente color), mon-  
taje en seco.
57. Cñamo (mismas condiciones de la anterior), montaje en -  
seco.
58. Cñamo (color negro, muestra de comparación), montaje en  
seco.
59. Cñamo (mismas características anteriores), montaje en --  
seco.
31. Lona (proceso de filtración de hemisuccinato de hidrocorti-  
sona), montaje en seco.
32. Lona (mismas características anteriores), montaje en seco.
60. Lona (semejante a la No. 31, fibras con cristales), montaje  
en agua.
61. Lona (semejante a la No. 31, fibras con cristales), montaje  
en seco.

## VIII) Polvo ambiental, talco.

79. Partícula (tomada de un vial del medio ambiente del área de producción), montaje en seco.

78. Partícula (tomada de un vial de producción ya estéril), montada en seco.

77. Partícula (tomada en un vial de control en el área aséptica), montada en seco.

46. Talco (usado para los guantes), montado en agua.

47. Talco (usado para los guantes), montaje en seco, no tiene actividad óptica.

## IX) Reactivos de Producción

23. Hidrocortisona base estandar (materia prima), montada en agua.

24. Hidrocortisona base estandar (materia prima), montada en seco.

25. Hemisuccinato de hidrocortisona (materia para producción), montada en agua.

26. Hemisuccinato de hidrocortisona (materia para producción), montaje en seco.

27. Sal sódica de hemisuccinato de hidrocortisona (producto terminado), montaje en agua.

28. Sal sódica de hemisuccinato de hidrocortisona (producto terminado), montaje en seco.

33. Fosfatos de potasio (constituyente del compuesto) montaje en seco.

34. Hemisuccinato de hidrocortisona (de la lona), montaje en -- seco.

X) Tapones, guantes de cirujano, esponjas de limpieza.

29. Tapón (de los viales donde viene el producto terminado), montaje en seco.

30. Tapón (de los viales donde viene el producto terminado), montaje en seco.

45. Tapón (fibras tomadas de un corte y adheridas al guante), - montaje en seco.

66. Esponja (limpieza, áreas limpia y aséptica), montaje en se-co.

67. Esponja (limpieza de las áreas ya mencionadas y de todo el equipo dentro de estas áreas), montada en aceite de inmersión.

XI) Celulosa de la Planta de Ecatepec y pestañas, cejas y cabello de la --  
cabeza.

94. Celulosa (se obtuvo de la Planta de Ecatepec), montaje en --  
seco.

95. Celulosa (muestra de comparación de la Planta de Ecatepec),  
montaje en seco.

96. Pestaña (de una persona, muestra de comparación), montaje  
en seco.

97. Ceja (de una persona), montaje en seco.

98. Cabello (de la cabeza de una persona), montaje en seco.

#### IV. Resultados

El material observado para la realización de esta Tesis resultó muy abundante y muy variado, más de lo que se pudo haber imaginado al inicio del trabajo. Aún cuando se inició el estudio del material de contaminación en los frascos viales que contenían el producto (F-500) y con un cierto lote de materiales susceptibles de ser contaminante, el interés y curiosidad científico industrial llevó al estudio y observación de todos los materiales que se encontraban en la ruta de producción y manejo del fármaco hasta el momento en que los frascos viales fueron cerrados herméticamente.

Los resultados se expondrán de acuerdo al listado del material - en el Capítulo anterior que, como se recordará estaba constituido por dos grupos principales:

- A) Los materiales de contaminación, presentes y aislados de 24 frascos viales conteniendo el producto y derivados de 6 lotes (L-1, L-2, L-3, L-4, L-5, L-6).
- B) Material derivado de 30 diferentes materiales conectados o relacionados con el producto, como: I) Papeles. II) Cartones de empaque.

III) Filtros y prefiltros de las membranas de filtrados de la solución. IV) Filtros y prefiltros del sistema de aire acondicionado. V) Filtros y prefiltros del módulo de flujo laminar. VI) Material fibrilar de textura de batas, overoles, escafandras, cofias, cubrebocas, batas y guantes de asbesto para el horno. VII) Algodón, lino, cáñamo, lona. VIII) Polvo ambiental, talco. IX) Este fué un grupo especial formado por los reactivos de producción del compuesto: Hidrocortisona base, Hemisuccinato de hidrocortisona, sal sódica de Hemisuccinato de hidrocortisona, Fosfatos de Potasio. X) Tapones, guantes de cirujano, esponjas de limpieza. XI) Celulosa de la Planta de Ecatepec y pestañas, cejas y cabello de la cabeza.

Una vez aislado e identificado el contaminante inicial se rastreó su existencia a lo largo de la línea de producción del inyectable.

### 1. Material Contaminante Original

#### Muestras Patrón

El estudio del material contaminante se inició con cuatro preparaciones histológicas que lo contenían procedentes de unos frascos viales liofilizados y considerados producto a granel y listos para su aplicación médica (Lotes L-1, L-2). Los primeros pasos realizados con el mate-

rial de los frascos fueron los ya mencionados, iluminación por Tyndalización; con este proceder se confirmó, primero, la existencia de un material contaminante y, segundo, la naturaleza filamentososa del contaminante.

Mediante la separación en membranas de filtración (MFS) se obtuvo el contaminante que fué pasado a una preparación de porta y cubreobjetos mediante el manejo con aguja de disección.

El montaje del material se realizó en dos preparaciones, en cámara de aire (material en seco) y, las otras, en aceite de inmersión. Las cuatro preparaciones se sellaron con barniz de uñas.

Este material así preparado fué observado al microscopio con los diferentes sistemas ópticos ya anotados en Material y Método.

La observación y el estudio de las cuatro preparaciones con los diferentes Sistemas ópticos ofreció imágenes semejantes y concordantes entre sí.

La Lámina I nos ilustra en 6 microfotografías las características morfológicas fundamentales de un grupo de 5 contaminantes del grupo I - del material muestra patrón.

Las figuras 1, 3 y 4 corresponden al contaminante del L-3; la Fig. 2 deriva del L-1; las Figs. 5 y 6 ilustran la imagen del contaminante del L-5.

Con estas imágenes obtenidas en diferentes Sistemas ópticos se confirmó la naturaleza filamentosa del contaminante, ampliándose la información de que se trataba de un material acintado, plano, de bordes -- muy paralelos y de imagen regular; las modificaciones de las imágenes -- que se ofrecen se derivan de dobleces y desgarros del material durante el manejo, ya sea a lo largo de la producción del medicamento o durante el aislamiento y montaje de las fibras. Se trata de un material de 50 a 80 u de anchura en la cinta; medidas de longitud no tienen sentido, ya que dependen de su fractura, sólo podemos ofrecer la longitud máxima que tenían los fragmentos estudiados (200 a 4000 u)

Los bordes son nítidos, muy bien marcados y persistentes a lo largo de la cinta; solamente se distinguen algunos dobleces y desgarros -- obviamente independientes de la naturaleza y morfología original de la -- cinta.

La Lámina II ilustra a mayor aumento y bajo diferentes Sistemas ópticos, al contaminante que se esta describiendo como el principal, ya que siempre estuvo presente en los 24 frascos viales de los diferentes Lotes de producción.

Las figuras 7, 8 y 10, son detalles del contaminante de las Figs. 1, 3 y 4 del L-3.

La figura 9 ilustra el contaminante del L-1, la Fig. 11 pertene-

ce al L-2 y la fig. 12 al L-6.

Con las imágenes de esta Lámina II se reafirma la naturaleza -- acintada, laminar del contaminante. También se advierte en las Figs. 8, 9, 11 y 12 partículas y elementos grumosos y filamentosos (señalados con flechas) que resultan, a su vez contaminantes del contaminante. En el caso de la Fig. 9, las partículas pueden corresponder a cristales del compuesto de Hidrocortisona.

El grumo sobre el borde derecho del filamento laminar de la Fig. 8, se identifica como restos del adherente del material en estudio.

Los flecos fibrilares de la Fig. 11, corresponden a "deshilachamiento" del filamento principal. Finalmente el material adherido al filamento en la Fig. 12, corresponde a restos estructurales de la membrana de filtración procedentes de las maniobras de aislamiento y captura del contaminante.

Las figuras de la Lámina III, corresponden todas, como ya se -- advierte, a un mismo segmento del mismo filamento, el mejor conservado, observado y fotografiado bajo diferentes Sistemas ópticos en el estudio analítico microscópico fotónico. En las figuras (13 a la 18) destaca la naturaleza laminar, acintada, delgada, plana, con bordes regulares, bastante paralelos y ligeramente acordonados.

Lo más notable y característico, con valor de identificación, es

la presencia de un dibujo de estructuras anulares; (como donas) de doble-contorno, muy nítidas y muy regulares; algunas de ellas en la porción central, lineal y media del filamento; en algunos casos hay contacto con los bordes del filamento.

En algunos sitios las imágenes sugieren la naturaleza de poros, - pero no fué posible confirmarlo; a pesar de los espectaculares detalles -- estructurales que brindaron los diferentes Sistemas ópticos empleados.

Hasta aquí, las ilustraciones y la descripción corresponden a -- nuestro primer contaminante que estuvo presente en todos los frascos via les contaminados (Lotes L-1, L-2, L-3, L-4, L-5 y L-6).

Las imágenes de la Lámina IV, derivan de los lotes L-3 (Figs. 19 y 20) y L-4, (Figs. 21 a 24) y constituyen las ilustraciones del segundo contaminante que sólo estuvo en tres frascos de los lotes L-3 y L-4.

Las Figs. 19 y 20 corresponden al mismo Campo, sólo que observado en Contraste de fases y bajo Luz polarizada respectivamente. Se trata nuevamente, como en el caso del contaminante anterior, de un material filamentos, laminar, plano, acintado, de bordes regulares y paralelos. La porción central muestra líneas irregulares que más que textura parecen exhibir dobleces del manejo y acciones de fuerza sobre el filamento. En la parte superior de ambas imágenes se advierte un plegamiento irregular del filamento que ratifica su naturaleza laminar, acinta-

da, como de un listón. La Fig. 20 pone de manifiesto la actividad óptica de este material.

Las figuras 21 a 24 proceden del lote L-4, que comparten sus características morfológicas y su conducta a los diversos Sistemas ópticos con el filamento de las figuras 19 y 20, del lote L-3. La naturaleza acinada, plana de filamento es particularmente notable en las Figs. 23 y 24.

La Lámina V muestra en detalle y bajo diferentes Sistemas ópticos los mismos filamentos de la lámina anterior. Las Figs. 25, 26 y 27 son detalles, en Contraste de fases, Luz polarizada y Contraste diferencial de interferencias del campo de plegamiento del filamento de las Figs. 19 y 20. Adviértase que no se manifiesta ningún patrón estructural especial, si bien se reafirma la descripción que ya hemos hecho.

Las figuras 28, 29 y 30 son también detalles en diferentes Sistemas ópticos del filamento del lote L-4; en ellas se confirma su estructura y se advierte además adherencias de materiales "Contaminante del contaminante" que se identificaría posteriormente con cristales del propio medicamento y depósitos grumosos procedentes probablemente de la membrana de filtración.

El contaminante que ahora ilustramos en la Lámina VI estuvo -- presente en 4 frascos viales de los Lotes L-3, (Fig. 31 y 32) y L-4 (Figs. 33 a 36).

Las figuras 31, 32, 33 y 36 muestran la morfología y la actividad óptica de los filamentos a la Luz polarizada; las figuras 34 y 35 son imágenes obtenidas en el Contraste diferencial de interferencias. El conjunto de imágenes nos permiten describir a este filamento como acordonado uniforme y longitudinalmente fisurado; la Fig. 35 es muy afortunada para mostrar la morfología y estructura del filamento.

La Lámina VII comprende dos series de microfotografías, la primera, de la Fig. 37 a la 42, es un mismo filamento en el mismo campo, bajo los Sistemas ópticos de Contraste diferencial de interferencias, Contraste de fases más Luz polarizada y Campo de luz polarizada respectivamente. La siguiente serie de Figs. 40 a la 42 es otra parte del mismo filamento anterior en una porción recta con Sistemas ópticos semejantes a los descritos para la otra parte; las imágenes son comparables entre sí. En estos estudios microfotográficos se confirma la naturaleza acordonada compuesta, de manera que el estudio de las propiedades ópticas de este contaminante tres son armónicas entre sí.

Las Láminas I, II y III corresponden al contaminante número 1; mientras que las Láminas IV y V al contaminante número 2, y las Láminas VI y VII al contaminante número 3 hasta este momento tenemos bien caracterizadas las propiedades ópticas y la expresión morfológica de los tres contaminantes sin saber, desde luego, de sus propiedades químicas

y mucho menos de su identidad y origen. A partir de este momento todo el resto del material que se estudió fue para presentarlo, cotejarlo y - compararlo con los tres contaminantes iniciales.

La Lámina VIII, ilustra con sus 6 microfotografías las Figs. 43 a la 48, la morfología y propiedades ópticas al microscopio de una muestra de papel Glasin, aquel papel que se emplea fundamentalmente en y para envolver accesorios de la máquina llenadora CIONI, mangueras de hule, guantes de cirujano que usan los operarios en el llenado y manejo del producto, envoltura de las esponjas de limpieza de las áreas limpia y -- aséptica así como del equipo que esta en ellas, cubierta del recipiente -- que contiene los tapones de hule que son esterilizados, envoltura de algunas piezas de la unidad de filtración y algún material de vidrio que es esterilizado en el autoclave.

El lector y el interesado en este trabajo podrán imaginar el momento de satisfacción y entusiasmo al haber identificado por comparación esta muestra de papel Glasin con el contaminante número 1, las flechas - marcan esta identidad comparativa hasta los más mínimos detalles de las estructuras anulares como donas.

Ahora con las magníficas microfotografías de la Lámina IX (de - la 49 a la 54) y bajo diferentes Sistemas ópticos, se ilustran las características morfológicas y propiedades ópticas de unos filamentos derivados

de algunas batas que se usan en la línea de producción. Con sorpresa y agrado este material se identifica por comparación con el contaminante número 2 ilustrado en las Láminas IV y V.

Las cuatro figuras de la Lámina X ilustran fibras y filamentos obtenidos de los guantes termoprotectores de asbesto y pudieron identificarse por comparación morfológica y de conducta óptica con el contaminante número 3 ilustrado en las Láminas VI y VII.

Como puede advertirse en diez Láminas con 58 microfotografías se pudo caracterizar, primero los tres contaminantes y después identificar por comparación con los materiales obtenidos en los diferentes sitios y objetos comprometidos en la línea de producción del fármaco.

Insisto en que la identificación por comparación resultó de la más alta especificidad sin la necesidad de haber recurrido a estudios químicos, ni cualquier otro método instrumental (halografía, espectroscopía molecular, microscopía electrónica, espectroscopía atómica y cromatografía de gases).

Finalmente las Láminas XI y XII, con sus doce microfotografías (Figs. 59 a la 70) son un ejemplo resumido del resto del material estudiado, puede advertirse que tanto la morfología como la conducta a los Sistemas ópticos facilitan muy rápidamente la comparación con las imágenes de los materiales de contaminación.

## V. Discusión

Los resultados, apoyados con el abundante material de ilustración, permiten comentarios y consideraciones muy favorables para demostrar la bondad del método de estudio microscópico en la identificación y reconocimiento de contaminantes en un producto farmacéutico acorde con los intereses que plantea la industria farmacéutica.

Conviene recordar que este trabajo, que proponemos seguirlo como un modelo ante la problemática de contaminantes, se inició con la presencia de "un contaminante en un frasco vial". La identidad del contaminante y su naturaleza eran totalmente desconocidas, sólo se sabía de su presencia a través de la observación directa y su confirmación a la luz incidente con tinalización sobre las partículas.

Como se advierte fué un principio muy elemental en cuanto al estudio de la identidad y naturaleza del contaminante se refiere. Si bien es cierto que la observación directa y la tinalización aseguraban la presencia del contaminante fueron apenas la invitación para iniciar el estudio de la naturaleza del contaminante y su fuente de generación. Creó en base a observaciones y resultados que el empleo de otros procedimientos, tales

como la estadística y el conteo de partículas en los aparatos especializados para este propósito, serán simplemente apoyo para fortalecer la existencia del contaminante, pero no para establecer su naturaleza, ni su procedencia. Estas consideraciones son particularmente válidas para el problema de contaminación en viales de pequeño volumen, como lo comprobaron J. Knapp y H. Kushner entre otros (23) y su opinión es ya de conocimiento y conciencia generalizados.

Ante la circunstancia mencionada creó que el estudio microscópico directo del contaminante es el método más adecuado, el más rápido, el más económico en instrumental y técnica y el de mayor seguridad para beneficio de los requerimientos industriales, ya que el estudio inicial no requiere del conocimiento químico de la partícula, ni exige consideraciones acerca de la toxicidad o no toxicidad del contaminante, simplemente nos demuestra su presencia.

La observación comparativa con los demás materiales "sospechosos" de contaminación nos permitió llegar a la identidad de origen sin la necesidad de profundizar sobre la naturaleza química, evitándonos así, procedimientos largos y costosos.

Considerando también que para otro tipo de estudios se requiere de una abundante cantidad de material a estudiar y en contaminaciones -- como la que nos ocupa no es fácil disponer de cantidades suficientes para

otro tipo de estudios. En todo caso, la observación al microscopio no excluye otros estudios con otros métodos químicos o físicos del contaminante.

Con el material y el proceder bastó con la presencia de una sola fibra de 40 u de ancho por 80 u a 200 u de longitud para que mediante el estudio microscópico, en particular con los sistemas de Contraste de fases, Contraste diferencial de interferencias y Campo de luz polarizada; - se tuviera la imagen precisa del contaminante desde el principio, sin necesidad de recurrir a métodos más complicados, costosos y largos. Pienso y sostengo que el procedimiento de identidad y reconocimiento por -- comparación morfológica, estructural y propiedades ópticas es de la más alta especificidad y seguridad en la identificación.

El primer contaminante que se estudió en serie, fué el que posteriormente se identificó derivado del papel Glasin. En este particular y ejemplar caso la morfología de las fibras del papel fué tan definitiva, clara, que ofreció suficientes recursos para poderla reconocer en el muestreo que a continuación se inició con todos los materiales en la línea de producción y ámbito del laboratorio que podrían ser la fuente de origen. Las figuras de las Láminas I, II y III, se identificaron con las de la Lámina VIII correspondientes al papel Glasin. Identificar por comparación el primer contaminante con las muestras preparadas con el papel Glasin

fué emocionante y estimulante para identificar los otros dos contaminantes que resultaron ser fibras de asbesto de los guantes de altas temperaturas Láminas VI y VII, y las fibras Lámina X de algodón Lámina IV y V con materiales sintéticos de algunas batas de trabajo Lámina IX.

Se estima que para las necesidades de trabajo y propósitos industriales haber llegado a la identidad con los materiales de origen u objetos comprometidos en la línea de producción, es suficiente y con grandes ventajas para la industria farmacéutica para corregir con todas las ventajas de pureza las fuentes de contaminación.

Si ahora existe interés estadístico, toxicológico y químico sobre los contaminantes son objeto de otros requerimientos y planteamientos científicos y técnicos que no quedan excluidos después de los objetivos y logros alcanzados con la observación y estudio microscópico.

En cuanto al estudio microscópico creó que los métodos empleados de observación directa en cámaras de porta y cubreobjetos sellados con mezcla de cera de abeja y parafina conteniendo los contaminantes en seco, aire, aceite de inmersión, glicerina, y agua, ofrece las ventajas de iniciar el conocimiento de la naturaleza del contaminante en cuanto a solubilidad e índice de refracción se refiere. En este caso los tres contaminantes (papel Glasin, asbesto, bata) fueron insolubles en todos los medios empleados, pero su contraste se exhibió con ventaja en atención al

medio de inclusión.

Todos los materiales, tanto los contaminantes iniciales como los contaminantes de comparación, se observaron en los diferentes Sistemas ópticos de Campo claro, Contraste de fases, Campo oscuro, Contraste diferencial de interferencia, Luz polarizada y el Sistema de fluorescencia a la Energía ultravioleta. Las imágenes obtenidas, además de llamativas debido a sus colores, fueron particularmente ventajosas en el caso del -- Contraste de fases, del Contraste diferencial de interferencia y del Campo de luz polarizada.

La imagen de composición de la portada es una demostración -- real de lo vivido en este trabajo; el frasco vial que aparece en la parte su perior izquierda corresponde a uno de los viales en los cuales se advirtió, mediante la observación directa del liofilizado reconstituido por tindaliza ción, la existencia de uno de los contaminantes.

La figura filamento laminar que aparece en su proximidad y en cuya estructura se advierten elementos anulares a manera de donas corresponden a la estructura del mencionado contaminante. Hasta este momento se confirmaba la existencia del contaminante en el vial, se sabía ya de su estructura al Contraste diferencial de interferencia, pero se ignoraba su naturaleza y su fuente de origen. La imagen de la mitad derecha de la Lámina corresponde al papel Glasin estableciéndose así la identidad

comparativa y precisándose la fuente de origen.

Los contaminantes identificados podrán estudiarse bajo otros -- puntos de vista e intereses, pero para mi propósito se alcanzó el objetivo preestablecido en este estudio con el método que se propuso, por ello se exalta con mucho interés los resultados obtenidos bajo el proceder basado en la observación y estudio microscópicos.

El procedimiento podría objetarse con valoraciones del tiempo empleado, pero aceptándolo, tal aparente limitante podría resolverse en base a la experiencia cada vez mayor sobre los contaminantes involucrados en la línea de producción. A este respecto se podría proponer el estudio microscópico de los materiales que se emplean en un proceso y realizar con las imágenes un archivo que podría ayudar cada vez que tuviera un contaminante en cualquier línea del proceso de ese producto.

Pienso que este trabajo además de cumplir con sus propósitos de estructuración de Tesis, representa una importante base en el estudio de contaminantes en la industria farmacéutica, y puede ser base en un estudio realizando un archivo de los materiales en el proceso de productos -- farmacéuticos. Esto podría parecer un proceso costoso, arduo y de sumo cuidado, pero llegado el momento de una contaminación sería el proceder más completo, económico y seguro que se deba seguir.

La proposición de un archivo puede tener carácter de distribu-

ción mediante venta o podría ser un requisito exigido a los fabricantes y distribuidores, pero cada fabricante en la línea de producción de un producto. Es decir quien vende el papel o algún material para áreas limpias y asépticas más unas fotografías de la imagen microscópica de estos materiales.

Ya para Avallone en 1985, este requisito era obligatorio y sería relativo a cada industria farmacéutica de acuerdo a sus productos.

Conviene aclarar y recordar que los contaminantes problema y los de comparación fueron tratados con exageración de cuidados para no caer en contaminaciones agregadas durante el manejo de los contaminantes primarios. De Luca aconseja y así se realizó, trabajar con agua tratada, bajo campana de flujo laminar correr testigos "blanco" en el método de filtración, etc. así se puede asegurar que lo contenido en cada preparación es exactamente lo que se deseó poner ahí entre porta y cubreobjetos.

En las ilustraciones, las Láminas XI y XII, muestran imágenes muy variadas de materiales derivados de la línea y ambiente de producción que no tuvieron nada que ver con los tres contaminantes de los frascos viales, (papel Glasin, fibras de bata y asbesto de guantes), son sólo doce microfotografías, pero en la práctica revisamos 98 materiales y de todos ellos se tienen las microfotografías correspondientes.

## VI. Conclusiones

1. En base a los resultados obtenidos y a la experiencia adquirida en este trabajo, la investigación de las partículas contaminantes del compuesto de Cortisona resultó exitosa, pues se alcanzaron los objetivos de identificación de los contaminantes.

2. El método de selección fue el de observación y estudio de los materiales contaminantes al microscopio bajo diferentes sistemas ópticos (Campo claro, Campo oscuro, Campo de luz polarizada, Contraste de fases, Contraste diferencial de interferencias y Fluorescencia a la Energía ultravioleta), siendo los tres últimos los que dieron más amplia información.

3. El estudio de los contaminantes al microscopio, realizado con equipo adecuado y con experiencia en microscopía resulta el método de selección, de máxima confiabilidad y seguridad.

4. Para obtener buenas microfotografías el método exige mucho cuidado en la manipulación y preparación de los contaminantes para evitar supercontaminaciones y dobleces del material que deforman la marcha de los rayos dando imágenes poco confiables.

5. Debe quedar establecido que el método microscópico en la forma que utilizamos y recomendamos, es un procedimiento de identificación por comparación, no debe pretenderse inferencias de naturaleza química.

6. El procedimiento es altamente objetivo si la identificación por comparación se realiza con microfotografías obtenidas en condiciones ópticas semejantes, como se realizó en este trabajo.

7. En las contaminaciones, se reconoció e identificó con absoluta seguridad objetiva al papel Glasin, a fibras de algodón y filamentos sintéticos derivados de algunas batas y, finalmente, fibras de asbesto procedentes de los guantes, de tal material empleado durante los procesos de esterilización en el horno y autoclave.

8. En esta comunicación, se puede con agrado y satisfacción, añadir a manera de última conclusión, que, cuando se identificaron los contaminantes, y se procedió a la eliminación de las fuentes de origen, la contaminación de fibras de algodón con filamentos sintéticos y de asbesto desapareció en el producto.

## I l u s t r a c i o n e s

Todo el material para esta Tesis es original.

## LAMINA I

## CONTAMINANTE 1

Presente en los lotes: L-1, L-2, L-3, L-4, L-5 y L-6.

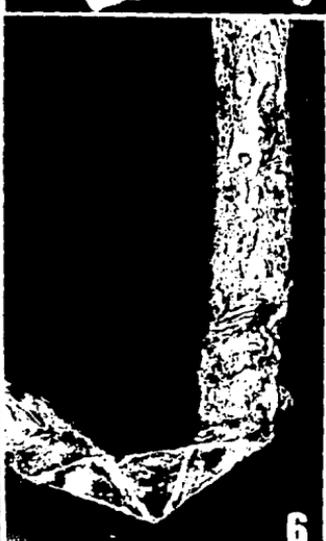
Imágenes similares en diferentes filamentos que exhiben la naturaleza fibrilar filamentosa, plana, de bordes regulares, rectos con gran paralelismo. En los Sistemas ópticos de Luz polarizada estos filamentos acintados emitan destellos metálicos que recordaban - cintillas del llamado "papel aluminio" de las envolturas de los paquetes de cigarrillos.

Figuras 1, 2 y 3. Imágenes obtenidas en el Campo de luz polarizada. Aumento 320 X.

Figura 4. Segmento del filamento observado al Contraste de fases donde se advierte una densidad estructural muy semejante en - toda su longitud. 320 X.

Figura 5. Segmento con un doblez observado con Luz polarizada; se advierte cierta rigidez del filamento exhibida por el doblez triangular. 320 X.

Figura 6. Otro segmento del filamento laminar con otro doblez que nos confirma la observación anterior. Contraste diferencial de interferencia. 400 X.



## LAMINA II

## CONTAMINANTE 1

Presente en los lotes: L-1, L-2, L-3, L-4, L-5 y L-6.

Conjunto de imágenes observadas en Contraste diferencial de interferencia, con excepción de la figura 10 que corresponde a Campo de luz polarizada.

Figuras 7, 8 y 9. Muestran detalles de la estructura filamentosa plana y de la forma como se doblan los filamentos en relación con "cierta rigidez" que les inferimos. Las flechas marcan materiales agregados a la morfología y naturaleza filamentosa de nuestro espécimen.  
320 X, 640 X, 640 X.

Figura 10. Fragmento filamentoso observado a la Luz polarizada; la posición especial del filamento en el Campo polarizado muestra una peculiar refringencia con brillo y extinción de la luz sobre el filamento.  
512 X.

Figuras 11 y 12. Segmentos de las muestras observados con Contraste diferencial de interferencia; además de la estructura laminar del filamento se observan contaminantes y traumatismos deformantes de las fibras señalados con las flechas.  
640 X y 160 X.



LAMINA III  
CONTAMINANTE 1

Presente en el lote: L-3.

Serie de afortunadas imágenes correspondientes al contaminante 1, en donde, bajo diferentes Sistemas ópticos se exhibe y exalta la existencia de una morfología especial consistente en figuras anulares, como donas, que ocupan la parte central del filamento; las flechas señalan a alguna de ellas.

Figura 13. Campo obscuro, con este Sistema óptico se advierten las figuras anulares y lo negro del centro sugiere perforación. También se advierte la naturaleza retículo fibrilar fina de la constitución del cuerpo del filamento. 400 X.

Figura 14. Contraste diferencial de interferencias construido con luz polarizada. Con este sistema se advierte el doble contorno anular de las figuras; se remarca el anillo interior y no parece existir perforación en el centro. 800 X.

Figura 15. Luz polarizada. Se confirma la morfología de las figuras con destellos de refringencia. 800 X.

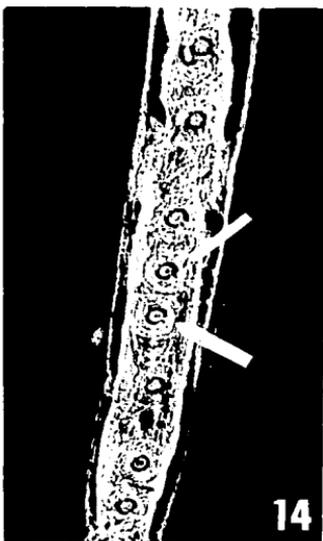
Figura 16. Imagen semejante a la anterior también con Luz polarizada exagerando la Isotropía y Anisotropía; persisten las figuras anulares. 500 X.

Figura 17. Contraste de fases construido con Luz polarizada. Con este Sistema óptico es como mejor se exhibe la estructura fina del filamento. 800 X.

Figura 18. Semejante a la anterior bajo Contraste diferencial de interferencia. 800 X, las flechas señalan las mejores imágenes, para futuras comparaciones.



13



14



16



17



18

## LAMINA IV

## CONTAMINANTE 2

Presente en los lotes: L-3 y L-4.

Imágenes de tres diferentes filamentos, con pliegues irregulares, de naturaleza fibrilar, plana, con bordes paralelos entre sí; - su textura en algunos segmentos es arrugada y en otros es lisa.

Figuras 19 y 20. Filamento observado en Contraste de fases y Luz polarizada. Detalle de los pliegues a manera de listón (marcados con las flechas). Al Campo de luz polarizada se observan en algunos segmentos del filamento que brillan los bordes a manera de cutícula, estas partes de la fibra presentan diferente tonalidad al resto de la fibra. 160 X.

Figuras 21 y 22. Imágenes observadas en Campo de luz polarizada y en Contraste de fases. Se advierte un filamento plano y liso, de bordes paralelos, un extremo es más ancho; bajo Luz polarizada la fibra presenta algunos segmentos con extinción de luz y algunos brillantes, así como cromaticidad y birrefringencia; en este sistema la fibra sobresale en el fondo negro, mientras que en Contraste de fases se advierten sus bordes paralelos y algunas sustancias agregadas a la fibra. 160 X.

Figuras 23 y 24. Detalle de una parte plana, acintada y Campo de luz polarizada. Se advierte la naturaleza acintada, bordes nítidos marcados en negro, destaca su aspecto rugoso en algunas partes y liso en otras, estructura homogénea. 250 X y 320 X.



19



20



21



22



23



24

## LAMINA V

## CONTAMINANTE 2

Presente en los lotes: L-3 y L-4.

Serie de imágenes donde destacan detalles de dos filamentos del contaminante 2, bajo diferentes Sistemas ópticos.

Figura 25 y 26. Muestran detalles del pliegue de las figuras 19 y 20 bajo Luz polarizada; se distingue que la fibra siendo delgada, tiene por lo menos dos grosores. La porción plegada es aún más ancha, la delgada plana y anhistá. 640 X.

Figura 27. Detalle del pliegue con zonas lisas, anhistas, - unas y rugosas otras, 820 X.

Figuras 28, 29 y 30. Serie de imágenes obtenidas en Contraste de fases, Contraste diferencial de interferencia y Campo de luz polarizada respectivamente. Se observan detalles de un extremo semitrenzado donde además presenta agregados irregulares marcados con flechas; en la fig. 29 se observa cromaticidad en la fibra y - las flechas marcan agregados provenientes de la membrana de filtración, en las figuras 28 y 29 los agregados son cristales irregulares. 640 X.



25



26



27



28



29



30

## LAMINA VI

## CONTAMINANTE 3

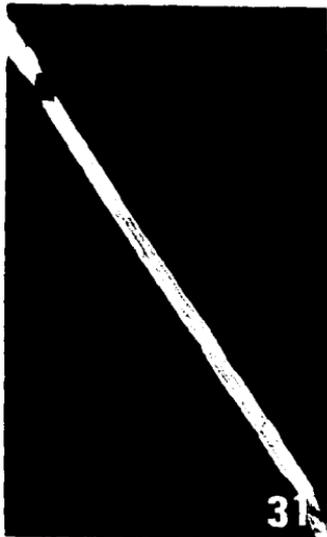
Presente en los lotes L-3 y L-4.

Imágenes muy similares de diferentes filamentos que muestran su naturaleza fibrilar ligeramente acordonada, rígida, con gran paralelismo en los bordes que exhiben un peculiar brillo en toda la fibra, se observan algunas líneas a lo largo de la fibra a manera de canales o fisuras.

Figuras 31, 32 y 33. Muestran la imagen a la Luz polarizada de filamentos rectos y ligeramente flexionados, con fisuras longitudinales a lo largo de la fibra; bajo Luz polarizada todas las fibras brillan y en algunos segmentos se oscurecen, presentando birrefringencia al giro concéntrico. 512 X.

Figuras 34 y 35. Imágenes obtenidas en Contraste diferencial de interferencia. Muestran un filamento con gran brillo donde destacan las líneas longitudinales en forma de canales. La Fig. 35 semeja un fascículo de filamentos acordonados girados sobre su eje. 512 X y 640 X.

Figura 36. Otro segmento de filamento observado con Luz polarizada. Se advierte la extinción de la luz en el segmento donde se flexiona la fibra, además de observarse una fisura a lo largo de la fibra. 512 X.



## LAMINA VII

## CONTAMINANTE 3

Serie de imágenes de gran valor, ya que manifiestan en toda su extensión la estructura filamentososa del contaminante 3, observándose las líneas longitudinales que caracterizan a este contaminante con respecto a los anteriores.

Figuras 37, 38 y 39. Microfotografías con diferentes Sistemas ópticos de un mismo sitio de un mismo filamento, aquel de la Fig. 35. Se confirma su estructura filamentososa y ligeramente acordonada, con bordes paralelos, nítidos. Se advierte armonía y correspondencia estructural. Estas imágenes resultan muy valiosas para la identificación por comparación posterior. Contraste diferencial de interferencia, Contraste de fases más Luz polarizada, Campo de luz polarizada.  
640 X.

Figuras 40, 41 y 42. Imágenes obtenidas con Contraste diferencial de interferencia, Contraste de fases construido con Luz polarizada, Luz polarizada. Estas imágenes son magníficas, destaca en ellas muy bien las fisuras longitudinales de las fibras y su estructura acordonada.  
640 X.

ESTA TESIS NO DEBE  
SALIR DE LA BIBLIOTECA



37



38



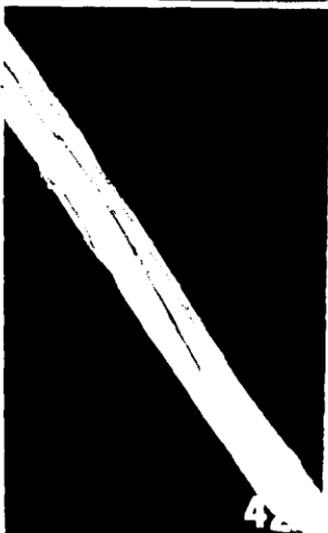
39



40



41



42

## LAMINA VIII

## PAPEL GLASIN

Conjunto de valiosas y específicas microfotografías que muestran la estructura, morfología y propiedades ópticas de las fibras que forman el papel Glasin.

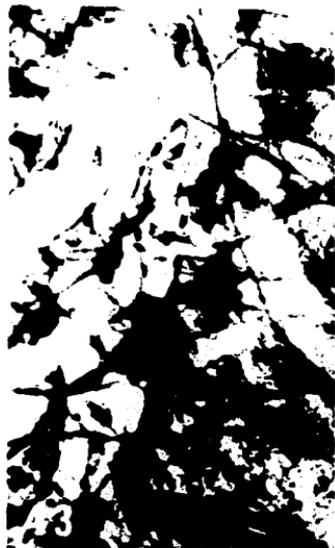
Figuras 43 y 44. Trama del papel Glasin en Campo de luz polarizada. Se observan los filamentos fibrilares entrelazados, su forma acintada, plana, con lustre y brillo metálico que hace que sobresalgan en el fondo negro. 160 X.

Figura 45. Contraste de fases. Con este sistema se advierten en los filamentos que salen de la trama del papel, estructuras anulares en la fibra (marcada con la flecha) se observan estas estructuras en color blanco. 100 X.

Figura 46. Magnífica imagen de una fibra de papel Glasin, obtenida en Contraste diferencial de interferencias en la cual se puede apreciar su grosor y confirmar su forma acintada, plana, con bordes paralelos y en su superficie notar los relieves y las estructuras anulares marcadas con la flecha. 256 X.

Figura 47. Detalle de una fibra del borde desflechado de la trama del papel Glasin. Contraste diferencial de interferencia. Se puede advertir a mayor aumento y marcadas con la flecha las estructuras anulares. Aquí también podemos observar su brillo, forma plana y sus bordes paralelos. 400 X.

Figura 48. Contraste de fases. En este sistema y con un mayor aumento, podemos distinguir en toda su extensión las estructuras anulares de la anterior imagen, la flecha marca una de ellas donde se puede observar que forma un doble círculo concéntrico, a manera de dona. 640 X.



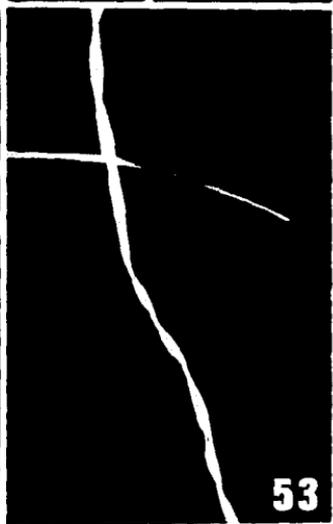
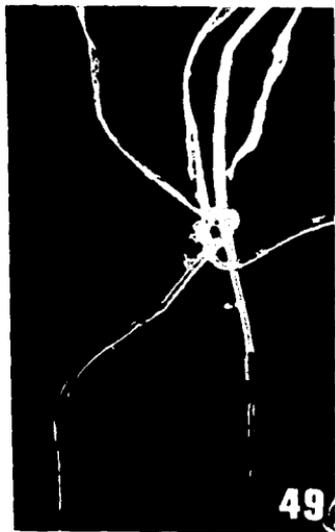
## LAMINA IX

## BATA

Serie de diversas imágenes de los filamentos de la trama del tejido de algunas batas compuestas de fibras de algodón y algunos filamentos sintéticos.

Figuras 49, 50 y 51. Conjunto de imágenes obtenidas en - - Campo Oscuro, Campo de luz polarizada y Contraste diferencial de interferencia. Se observa un filamento de bata que se identifica de - naturaleza artificial sintético.  
256 X.

Figuras 52, 53 y 54. Imágenes obtenidas bajo Campo de luz polarizada. Se advierten filamentos con segmentos planos, acordonados y en una torción helicoidal, característica de las fibras de algodón.  
320 X.



## LAMINA X

## GUANTES DE ASBESTO

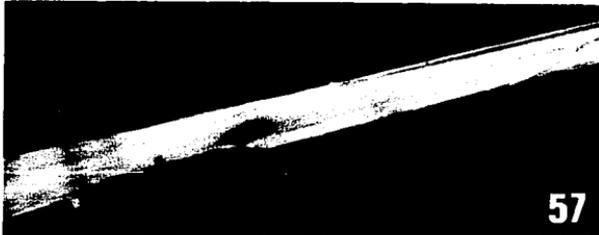
Serie de cuatro microfotografías, de inapelable aplicación -- comparativa por su magnífica exhibición de la morfología estructural -- que presenta. Destacan las líneas longitudinales en estas imágenes.

Figura 55. Contraste diferencial de interferencia. Se observan filamentos con volumen destacando su naturaleza semiacordonada, rígida y brillante.  
160 X.

Figura 56. Imagen obtenida en Campo de luz polarizada con extinción de la luz en algunas flexiones de la fibra.  
256 X.

Figura 57. Filamento observado bajo Luz polarizada. Se advierte en la superficie de este filamento líneas longitudinales que dan la impresión de ser varias fibras unidas, además de advertirse una mancha oscura que marca un traumatismo en la fibra.  
320 X.

Figura 58. Magnífica imagen obtenida en Contraste diferencial de interferencia, construido con Luz polarizada, donde las fisuras longitudinales están bien marcadas y realzan la estructura filamento -- acordonada de la fibra.  
640 X.



## LAMINA XI

## MATERIALES DIVERSOS

Grupo de imágenes de materiales diversos obtenidos en la línea de producción de el fármaco; son una pequeña muestra de varios materiales de naturaleza y origen conocidos.

Figura 59. Campo claro. Imagen de una partícula de vidrio, encontrada en un frasco vial limpio, se advierte claramente su morfología cristalina, en Luz polarizada no tiene actividad óptica.  
320 X.

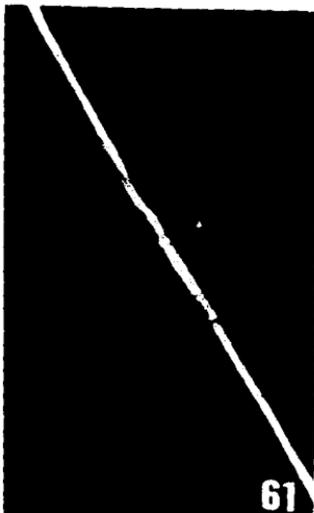
Figura 60. Campo de luz polarizada. Imagen de una muestra de esponja que se usa en la limpieza de las áreas limpia y aséptica, así como de todo el equipo y material que se encuentra en estas áreas.  
100 X.

Figura 61. Campo de luz polarizada. Segmento de un filamento de tejido sintético morfología "sui generis".

Figura 62. Filamentos de lina observados a la Luz polarizada.  
100 X.

Figura 63. Filamento de algodón observados a la Luz polarizada. Imagen característica.  
100 X.

Figura 64. Filamentos de cáñamo. Imagen característica. Campo de luz polarizada.  
100 X.



## LAMINA XII

## MATERIALES DIVERSOS

Figuras de la 65 a la 69. Microfotografías en el Sistema óptico de Luz polarizada.

Figura 65. Filamentos de cubreboca (material sintético semejante al de la cofia).  
320 X.

Figura 66. Filamento ligeramente acordonado de la trama de la lona de filtración.  
320 X.

Figura 67. Filamentos laminares de papel cartón. 320 X.

Figura 68. Cristales de Hemisuccinato de hidrocortisona.  
320 X.

Figura 69. Filamento de la trama del prefiltro del módulo de flujo laminar (material sintético).  
320 X.

Figura 70. Grupos sedimentados en el filtro HEPA, material muy compacto mezclado con filamentos rígidos de material sintético. Contraste de fases.  
640 X.



65



66



67



68



69



70

## VII. Bibliografia

1. Avallone H. L. "Control Aspects of Aseptically Produced Products". Journal Parenteral Science and Technology. 39 (2), 75-79, 1985.
2. Barber T. A., et al. "Overview of the International Conference on Liquid Borne Particle Inspection and Metrology". Journal of Parenteral Science and Technology. 41 (6), 193-197, 1987.
3. Borchert S. J., et al. "Particulate Matter in Parenteral Products: Arreview". Journal of Parenteral Science and Technology. 40 (5), 212-237, 1986.
4. Cadwell G. H. "Evaluation of high Efficiency Filters". Journal Parenteral Drug Association. 32 (4), 182-187, 1978.
5. Caramella C., et al. "Contamination of injectable solution by foreign particles". Chemical Abstracts. 94 (18), 145217b, 363, 1981.
6. Code Federal Regulations Food and Drugs Par 200 to 299 Published by the office of Federal Register National Archives and Records Administration. EUA, pp. 73-95, 1985.
7. Couriel B. "Freeze Drying: Past, Present, and Future". Journal Parenteral Drug Association. 34 (5), 352-357, 1980.
8. De Luca P. P., et al. "Guidelines for the Identification of Particles in Parenterals" FDA BY LINES, 10 (3), 111-165, 1980.
9. De Luca P. P. "Microcontamination Control: A summary of an Approach to Training". Journal Parenteral Science and Technology. 37 (6), 218-224, 1983.
10. De Luca P. P. et al. "An Approach to Setting Particulate Matter Standards for Small Volume Parenterals". Journal Parenteral Science and Technology. 40 (1), 2-13, 1986.

11. De an D. A. "Sources of Particulate Contamination in Sterile Packaging". Pharmaceutical Technology. 9 (8), 32-36, 1985.
12. Draftz R. G. and Graf J. "Identifying Particle Contaminants". Bulletin of the Parenteral Drug Association, 28 (1), 35-51, 1974.
13. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, Quinta edición. México, D. F. 1988. pp. 950-954, 1259.
14. Flamberg D. W. "Manufacturing Considerations in the lyophilization of Parenteral Product". Pharmaceutical Manufacturing. 3 (3), 29-48, 1986.
15. Flaum I., "Contamination of Pharmaceutical Products". Journal of Pharmaceutical Science. 67 (1), 1-10, 1978.
16. Gross R. I. "Testing of Laminar Flow Equipment". Journal of the Parenteral Drug Association. 32 (4), 174-181, 1978.
17. Galimberti Giulio. "Actualización sobre las Partículas Extrañas en - los inyectables de pequeño volumen". Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. México, D. F. 18 (2), 9-17, 1987.
18. Groves M. J. "Some size distributions of particulate contamination found in commercially available intravenous fluids". Journal Pharmaceutical Pharmacology. 18 (1), 161-167, 1966.
19. Heuse O., et al. "Nondestructive identification of textile fibers by interference microscopy". Chemical Abstracts. 97 (86404X), 222, 1982.
20. Hopkins G. H. and Young R. W. "Correlation of Microscopic with Instrumental Particle Counts". Bulletin of the Parenteral Drug Association. 28 (1), 15-25, 1974.
21. Illum L. J., et al. "Characterization of particulate contamination release by application of parenteral solution". International Pharmaceutical Abstracts. 15 (1/2), (19), 155038, 1985.
22. Knapp J. Z., et al. "Particulate Inspection of Parenteral Products: An Assessment". Journal of Parenteral Science and Technology. 35 (4), - 176-185, 1981.

23. Knapp J. Z. and Kushner H. "Particulate Inspection of Parenteral - Products: From Biophysics to Automation". Journal of Parenteral - Science and Technology. 36 (3), 121-127, 1982.
24. Knapp J. Z. et al. "Inventory and Measurement of Particulates in - Sealed Sterile Containers". Journal of Parenteral Science and - Technology. 37 (5), 170-179, 1983.
25. Knapp J. Z. "Particulate Matter Counting: The Technical Issues". Journal Parenteral Science and Technology. 42 (1), 2-8, 1988.
26. Lieberman A. "Calibration Methods for Liquid-Borne Particle - counters". Pharmaceutical Manufacturing. 2 (11), 39-44, 1985.
27. Longe R. L. "Particulate contamination in selected Parenteral drugs". Journal Can. Anesth. Soc. 27 (1), 62-4, 1980.
28. Luna C. J. "Introducing People Into the Clean Room". Pharmaceutical Engineering. 6 (1), 15-19, 1986.
29. Murty R., et al. "In-Process Controls During the Manufacture of Inyeactable". Pharmaceutical Technology. 52(1), 78-80, 1977.
30. Nicholson W. J., et al. "Asbestos Contamination of Parenteral Drug". Science. 177 (1), 171-173, 1972.
31. Pikal M. J. and Lang J. E. "Rubber Closures as a Source of Haze in Freeze Dried Parenterals: Test Methodology for Closure Evaluation". Journal Parenteral Drug Association. 32 (4), 162-173, 1978.
32. Rebagay T., et al. "Particulate Matter Monitoring I. Evaluation of Some Membrane Filters and Microscopic Technique". Bulletin of the Parenteral Drug Association. 31 (2), 57-69, 1977.
33. Schroeder H. G. and De Luca P. "Theoretical Aspect of Particulate Matter Monitoring by Microscopic and Instrumental Methods". Journal Parenteral Drug Association. 34 (3), 183-191, 1980.

34. Seager H., et al. "Structure of Products Prepared by Freeze-Drying Solutions Containing Organic Solvents". Journal Parenteral Science and Technology. 39 (4), 161-179, 1985.
35. Spence J. "Implications of particle contamination, standards for small volume injections for the pharmaceutical industry". Chemical Abstracts. 96 (129607q), 457, 1982.
36. Trasen B. "Detection and Reduction of Particulate Matter in Pharmaceutical". Chemical Engineering Progress. 64 (2), 64-68, 1968.
37. Tricome J. R., et al. "A Comparison of the HIAC Particle Size - Analyzer, and Automated Image Analyzer and the PMA Membrane Microscopic Method of Particle Size Analysis". Journal of Parenteral Science and Technology. 40 (2), 58-60, 1986.
38. Turco S. J., et al. "Clinical Significance of Particulate Matter; a review of the literature". Hisp. Pharmaceutical. 8 (5), 137-145, 1973.
39. USP XXI, "The United States Pharmacopeia, the National Formulary NF XVI" Twenty-first Revision. United States Pharmacopoeial Convention, Inc. 12601, Twinbrook Parkway, Rockville, Md. 20852, official from January 1, 1985.
40. Whyte W. P. and Hodgson R. "Monitoring the causes of Clean room contamination". Manufacturing Chemist & Aerosol News. 65 (sept), 65-81, 1979.
41. Whyte W. "Settling and Impaction of Particles into containers in Manufacturing Pharmacies". Journal of Parenteral Science and Technology. 35 (5), 255-261, 1981.
42. Whyte W. P. "The Influence of Clean Room Design Contamination". Journal of Parenteral Science and Technology. 38 (3), 103-108, 1984.
43. Yokoyama Hiroshi, Iwagami S. "Contamination of foreign Particulate matters in general parenteral solutions". Chemical Abstracts. 96 (12971x), 459, 1982.

## LIBROS

44. Aiáche J. M. et al., "Biofarmacia" 2a. edition, editorial El Manual Moderno, México, D. F. 1982, pp. 430-435.
45. Bernis M. J. "Atlas de Microscopía" 11a. edición. Ediciones Jover, México, D. F. 1979, pp. 1-20, 70-84.
46. Jiménez N. R. "Estudio Criminalístico de Pelos y Fibras" cuadernos del Instituto Nacional de Ciencias Penales. 1980.
47. Juran J. M. et al. "Quantity Control Handbook". 2nd edition, Mc. Graw-Hill Company Inc. 1962, pp. 4-12.
48. Lachman L. et al., "The theory and practice of industrial pharmacy". 2nd edition, Lea & Febiger, Philadelphia, 1976, pp. 567-625.
49. Locquin M. y Langeron Maurice. "Manual de Microscopía". 1a. edición, Editorial Labor, Barcelona. 1985. pp. 42-75.
50. Padgett, R. W. et al., "Textile Chemistry and Testing in the Laboratory". 2nd. edition, Burgess Publishing Company, EUA. 1954, pp. 6-28.
51. Parrot E. L. "Pharmaceutical Technology" Sterile Solution". Burgess Publishing Company, Minneapolis Minn. 1975, pp. 274-292.
52. Reminton's Pharmaceutical Sciences. 16th edition, Mack Publishing Company Easton, Pennsylvania, EUA., 1980. pp. 1463-1490.
53. Richards J. W. "Introduction to Industrial Sterilization" Academic Press, London and New York, 1968, pp. 1-11, 133-144.
54. Russell A. D. et al. "Principles and Practice of Disinfection, Preservation and Sterilization". Blackwell Scientific Publications. Oxford, London. 1982. pp. 221-245.
55. Sears F. W. "Fundamentos de Física III "Optica". Third. Edition, Aguilar, Madrid, pp. 131-285, 1958.

56. Schuwarz E. R. "Textiles and the Microscope". 1a. edition sixthin impresion, Mc Graw-Hill Book Company, New York and London, EUA. 1934, pp. 1-17, 208-280.
57. Tolansky, F.R.S. "Interference Microscopy for the Biologist". Publisher Charles C. Thomas, Illinois U.S.A. 1968. pp. 3-63, 101-117, 129-137.
58. Turco, S. J. et al., "Sterile Dosage Forms their Preparation and Clinical Aplicacion" 2nd edition, Lea & Febiger, Philadelphia, EUA. pp. 36-79, 409-417, 1979.