



**UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA  
FACULTAD DE FARMACIA  
POSTGRADO DE ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD**



**“DESARROLLAR UN MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE PRODUCCIÓN DE ANTIVENINAS PARA EL CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UCV DISEÑADO BAJO EL MODELO DE LA NORMA ISO 9001:2008 Y EL CONTENIDO DE LAS NORMAS DE BPM, INFORME 32”**

**FARMACEUTICO. Antonio Isidro De Sousa Pereira**

**TUTORAS: Dra. Elsa Castejón  
Dra. Alba Vargas**

Caracas, 15 de Julio de 2013



## VEREDICTO

Quienes suscriben, miembros del jurado designado por el Consejo de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, para examinar el **Trabajo Especial de Grado** presentado por el Farmacéutico **ANTONIO ISIDRO DE SOUSA PEREIRA** C.I. 7.660.433, bajo el título "DESARROLLAR UN MANUAL DE PROCEDIMIENTOS DE PRODUCCIÓN DE ANTIVENINAS PARA EL CENTRO DE BIOTECNOLOGIA DE LA FACULTAD DE FARMACIA DE LA UCV DISEÑADO BAJO EL MODELO DE LA NORMA ISO 9001:2008 Y EL CONTENIDO DE LAS NORMAS DE BPM, INFORME 32", a fin de cumplir con el requisito legal para optar al grado académico de **ESPECIALISTA EN ASEGURAMIENTO DE LA CALIDAD**, dejan constancia de lo siguiente:

1.- Leído como fue dicho trabajo por cada uno de los miembros del jurado, se fijó el día **15 de julio de 2013** a la **4:00 pm**, para que **el autor** lo defendiera en forma pública, lo que **el autor** hizo en **el aula 701**, del **7mo** Piso de la Facultad de Farmacia, mediante un resumen oral de su contenido, luego de lo cual **respondió** a las preguntas que le fueron formuladas por el jurado, todo ello conforme con lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

2.- Finalizada la defensa del trabajo, el jurado decidió **APROBARLO** por considerar, sin hacerse solidario con la ideas expuestas por **el autor**, que **se ajusta** a lo dispuesto y exigido en el Reglamento de Estudios de Postgrado.

Para dar este veredicto, el jurado estimó que el trabajo examinado: representa un aporte extraordinario tanto para la Universidad como para el país toda vez que lleva un vacío en la materia. Asimismo, el jurado considero: Otorgarle la

*Handwritten signatures in blue ink, including names like 'Hobbes' and 'Sofy'.*

calificación de **EXCELENTE** y se recomienda su publicación en revistas arbitadas Nacionales e Internacionales.

En fe de lo cual se levanta la presente ACTA, a los **quince** días del mes de **julio** del año **2013**, conforme a lo dispuesto en el Reglamento de Estudios de Postgrado, actuó como Tutora Coordinadora del jurado la Dra Elsa Castejon



---

Dr. Miguel Ángel López  
C.I. V- 497.508  
Facultad de Farmacia U.C.V



---

Lic. Miriam Suarez  
C.I. V- 7.663.980  
Instituto Ingenieria



---

Dra. Elsa Castejon  
C.I. V- 1.898.152  
Tutora - Coordinadora

## **AGRADECIMIENTO**

Lograr mi especialización, un anhelo, un triunfo que deseo agradecer:

Infinitamente a Dios, mi Señor, mi Guía, mi Proveedor, mi fin Ultimo, quien siempre de su mano me lleva para alcanzar todas mis metas.

A mi Madre, mi inspiración para alcanzar mis metas, Gracias por enseñarme que todo se aprende y que todo esfuerzo es al final una gran recompensa. Tu esfuerzo se convirtió en tu triunfo y el mío, Madre te Amo.

A Alejandro, mi porción de cielo que bajó hasta acá para hacerme el hombre más feliz, porque nunca imaginé que de un ser tan pequeño emanara tanta fuerza y entusiasmo para alegrar mi existencia, y a ti Victoria por llevar en tu vientre a tan hermoso ser.

A mi Padre, que aunque hoy no se encuentra para ver mi triunfo, sé que desde el otro plano guía mis pasos cada día.

A mis Hermanas María y Elena las adoro! Y a mi hermano y Colega David, gracias eres un ejemplo a seguir.

A Mariana y Darwin, dos personas que fueron un gran apoyo durante este agradable periodo académico, por ser mis amigos y por soportarme.

A mis tutoras por la paciencia, la dedicación, el apoyo que siempre me han brindado y por demostrarme una vez más su excelencia académica y profesional.

Gracias a todos!

## RESUMEN

El envenenamiento ocasionado por serpientes y escorpiones es un problema de Salud Pública en Venezuela. Cada año se producen entre 6 y 7 mil casos de emponzoñamiento por serpientes. Las únicas antiveninas que se producen en país son las elaboradas en el Centro de Biotecnología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, las cuales son utilizadas por los Centros de Salud para contrarrestar los efectos de los venenos de ofidios y artrópodos, elaborados a partir de los años 80.

Tomando en consideración que las antiveninas han sido elaboradas utilizando los mismos procedimientos durante largo tiempo, éstos debían ser ajustados a las normativas vigentes del Ministerio del Poder Popular para la Salud, motivo por el cual, siendo el Centro de Biotecnología, el único Centro en el País que elabora este tipo de productos, siendo además parte del acervo científico de la Universidad Central de Venezuela, se consideró indispensable desarrollar los procedimientos operativos estándares que sustentaran todas las actividades de producción que allí se realizan, a objeto de cumplir los requerimientos de las normas de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) del Ministerio Para el Poder Popular de la Salud, informe 32 OMS, y la Norma ISO 9001:2008.

Para el cumplimiento de los objetivos establecidos, se realizaron entrevistas con el personal de producción y control de calidad a fin de detectar las oportunidades de mejora de los documentos que manejaban y determinar los faltantes, de acuerdo a los requerimientos de la norma BPM. Posteriormente se elaboró el Manual con los lineamientos ISO 9001:2008.

## Tabla de Contenidos

Veredicto	II
Agradecimiento	IV
Resumen	V
Tabla de Contenidos	VI
Lista de Tablas	X
Lista de Figuras	XI
Lista de Anexos	XII
Introducción	1
Marco teórico	7
Producción de Antiveninas	7
Etapa I	8
Identificación del animal ponzoñoso , ingreso a cuarentena y evaluación veterinaria	8
Mantenimiento , manipulación y ordeño del animal ponzoñoso	12
Selección, preparación y análisis de la mezcla de venenos	14
Obtención y almacenamiento de Venenos	14
Control de Calidad de venenos, características Bioquímicas del veneno	16
Etapa II	17
Selección del animal donador	17
Evaluación Veterinaria, selección y cuarentena de los animales utilizados en la producción de antiveninas	18

Preparación del cronograma de inmunización e inclusión del animal en el programa	21
Etapa III	21
Inmunización activa	21
Inmunización de los animales	25
Extracción de sangre y separación de plasma	26
Fraccionamiento, purificación y diálisis	30
Purificación de las inmunoglobulinas	30
Purificación de IgG Intacta	32
Purificación de F(ab') <sub>2</sub>	34
Purificación con ácido caprílico de F(ab') <sub>2</sub>	36
Purificación de antiveninas Fab	37
Diálisis	38
Análisis de Plasma	39
Control de Calidad de Plasma antes del Fraccionamiento	40
Etapa IV	40
Producto en proceso, producto a granel y producto terminado	40
Control de Calidad de las Antiveninas	41
Control en Proceso	42
Control del Producto a Granel ( Ampollas y Viales)	42
Fabricación	51
Llenado estéril	51
Acondicionamiento de producto a granel	52

Liberación de Lote	52
Almacenamiento	54
Distribución	55
Creación de Farmacoteca o archivo de muestras	55
Estabilidad	55
Mejoramiento Continuo, Gestión de la Calidad y Normas aplicadas	57
Mejoramiento Continuo	57
Filosofía de la Calidad	58
Beneficios del Proceso de Mejoramiento continuo	60
Pasos del Mejoramiento Continuo	62
Gestión de Calidad	63
Buenas Prácticas de Manufactura	65
Requisitos de las BPM	70
Estructura de la Norma de BPM, informe 32 de la OMS	72
Buenas Practicas de Almacenamiento y Distribución	75
Norma ISO 9000	81
Estructura de la Norma ISO 9001:2008	86
Documentación del Sistema de Calidad	88
Implementación del Sistema Documental	88
Preparación de la Documentación	89
Niveles de la Documentación del Sistema de Calidad	90
Responsables de la Documentación	90
Descripción de los Documentos del Sistema de Calidad	91

Objetivo General	114
Objetivos Específicos	114
Metología	116
Resultados	118
Conclusiones	123
Referencias Bibliográficas	125
Glosario	132
Anexos	146

**Lista de Tablas**

**Tabla I      Evolución de las Buenas Prácticas de Manufactura      69**

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b>	<b>Etapas de la producción de Antiveninas</b>	<b>8</b>
<b>Figura 2</b>	<b>Zonas recomendables para la inmunización de Caballos</b>	<b>25</b>
<b>Figura 3</b>	<b>Fraccionamiento de Plasma por purificación de IgG</b>	<b>34</b>
<b>Figura 4</b>	<b>Fraccionamiento de Plasma por purificación de Fragmentos F(ab')<sub>2</sub></b>	<b>36</b>
<b>Figura 5</b>	<b>Fraccionamiento de Plasma por purificación de Fragmentos F(ab')<sub>2</sub> con digestión con pepsina y precipitación con ácido caprílico</b>	<b>37</b>
<b>Figura 6</b>	<b>Fraccionamiento de Plasma por purificación de Fragmentos Fab digestión con papaína y precipitación con sulfato de amonio</b>	<b>38</b>
<b>Figura 7</b>	<b>Diagrama de Flujo de identificación de animales ponzoñosos</b>	<b>93</b>
<b>Figura 8</b>	<b>Diagrama de flujo de sangrado de equinos</b>	<b>95</b>
<b>Figura 9</b>	<b>Ejemplo de formularios</b>	<b>101</b>
<b>Figura 10</b>	<b>Formulario Lista Maestra de Documentos Controlados Internos</b>	<b>105</b>
<b>Figura 11</b>	<b>Formulario de Control de Cambio</b>	<b>109</b>

## **Lista de Anexos**

Anexo N° 1 Manual de Calidad	<b>CD</b>
Anexo N°2 Procedimientos Generales P-G-CB-001.v.0 al P-G-CB-020.v.0	<b>CD</b>
Anexo N° 3 Procedimientos Generales P-G-CB-021.v.0 al P-G-CB-040.v.0	<b>CD</b>
Anexo N° 4 Procedimientos Generales P-G-CB-041.v.0 al P-G-CB-053.v.0	<b>CD</b>
Anexo N° 5 Procedimientos de Mantenimiento	<b>CD</b>
Anexo N° 6 Procedimientos de Control de Calidad	<b>CD</b>
Anexo N° 7 Procedimientos de Microbiología	<b>CD</b>
Anexo N° 8 Instrucciones de Trabajo de Operación	<b>CD</b>
Anexo N° 9 Instrucciones de Trabajo de Limpieza	<b>CD</b>
Anexo N° 10 Técnicas de Análisis de Materias Primas, Material de envase - empaque y Producto a granel y terminado	<b>CD</b>
Anexo N° 11 Procedimientos Recursos Humanos	<b>CD</b>
Anexo N° 12 Procedimientos de Finanza	<b>CD</b>

## **INTRODUCCIÓN**

Después de la identificación de la difteria y la toxina tetánica, Von Behring y Kitasato informaron sobre las propiedades antitóxicas del suero de animales inmunizados contra la difteria o toxina tetánica; y sugirió el uso de antisueros para el tratamiento de estas enfermedades (1). En 1894, la antitoxina diftérica Behring, fue la primera administrada con éxito por Roux para salvar a los niños del sufrimiento de la difteria grave. Por lo tanto, la terapia de sueros antitóxicos nació y fue fabricada por Burroughs Wellcome en el Reino Unido. El mismo año, Phisalix Bertrand (2) y Calmette (3) de forma simultánea, pero independiente, presentaron durante el mismo período de sesiones sus observaciones sobre las propiedades antitóxicas del suero de conejos y cobayos inmunizados contra el veneno de cobra y de víbora, respectivamente. Inmediatamente después del descubrimiento de la "suero - terapia", Albert Calmette participó activamente para demostrar su eficacia en el tratamiento del envenenamiento humano. El primer antídoto de uso clínico derivado del caballo, fue elaborado en 1895 por Haffkine en la India y por Lépinay en Vietnam.

La Elaboración de Antiveninas fue efectuada por primera vez por Albert Calmette, en Indochina en 1894, consiguiendo así un suero para los envenenamientos provocados por las Cobras (*Naja tripudians*) de ese país, como también las de Europa y Australia, y lo denominaron Serum antivenimeux. Casi simultáneamente en Francia, Mime Phisalix y Beltrand, produjeron un suero contra el veneno de una especie de *Vipera* europea

(Vipera aspid). En esa época se interpretó que estos sueros eran de uso universal, para todos los ofidios ponzoñosos. (4)

Es el brasileño Vital Brazil Mineiro da Campanha, quien en el año 1901, dio a conocer por primera vez en América, sueros preparados con especies autóctonas de su país: anticrotálico (cascabel), antibotópico (yará) y antiofídico (varias especies de yará y cascabel). En la presentación de su trabajo, demostró la necesidad de elaborarlos con venenos de diferentes especies, otorgando el carácter de especificidad de los sueros antiofídicos, dado por la diferencia de los componentes tóxicos de los venenos de cada una de las serpientes ponzoñosas. (4)

Históricamente la utilización de suero empleando sangre de caballos hiperinmunizados tiene como pioneros a Calmette y a Vital Brazil (suero-terapia).

Más tarde se demostró que las moléculas activas responsables de la acción terapéutica del "suero antiofídico", eran los anticuerpos (inmunoglobulinas). Posteriormente, se utilizaron las inmunoglobulinas, o los fragmentos inmunoglobulina (F(ab')<sub>2</sub>), purificados de suero, en lugar de suero crudo (5, 6).

Las Antiveninas se producen en varios países de Sur América por el método del Instituto Butantan de Brasil. Sin embargo, existen algunas diferencias; por ejemplo, en Uruguay se produce la defibrinación con Cloruro de Calcio al 25%. El Proceso de producción se basa en la hiperinmunización de caballos y la posterior purificación del plasma por precipitación salina, acción enzimática y calor. De esta forma, se obtiene una inmunoglobulina hipotóxica e hiperinmune,

capaz de neutralizar específicamente la acción de los venenos (7). En Uruguay, el proceso de purificación es seguido por una liofilización de las inmunoglobulinas para aumentar el periodo de vida útil del producto y eliminar la refrigeración (8).

En Costa Rica, las antiveninas son elaboradas en la Universidad, en el Instituto Clodomiro Picado, siguiendo un procedimiento similar al que se utiliza en otros centros productores de la región. Sin embargo, en algunos de estos laboratorios se utiliza la digestión con pepsina, con el fin de obtener el fragmento F (ab')<sub>2</sub>, en lugar de la inmunoglobulina completa. Con el uso del fragmento F (ab')<sub>2</sub>, se disminuyen los problemas de hipersensibilidad inmediata. La antivenina producida en el Instituto Clodomiro Picado, contiene, además de las inmunoglobulinas, pequeñas cantidades de otras proteínas séricas, tales como albúmina, alfa globulinas y beta-globulinas (9,10). La diferencia fundamental entre la producción de antiveninas en Venezuela y en Costa Rica, radica en la purificación, ya que en el Centro de Biotecnología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, se utiliza el método de precipitación con sales y digestión enzimática; y en el Clodomiro Picado se utiliza un proceso de purificación con ácido caprílico (9,10).

Tomando en consideración la falta de disponibilidad de antiveninas efectivas, así como la complejidad del proceso de producción, la OMS aprobó una serie de directrices en su sección 59<sup>a</sup>, del Comité de Expertos sobre la Normalización de Diversidad Biológica, que tuvo lugar en Ginebra del 13 al 17

de octubre de 2008, para la Producción, Control y Regulación de inmunoglobulinas antiveninas de Serpientes. (11)

En marzo de 2007, las antiveninas de serpientes fueron incluidas en la Lista de Medicamentos Esenciales (12), reconociendo su papel en un sistema de atención primaria. La disponibilidad sostenible de antiveninas efectivas y seguras, debe estar garantizada y los sistemas de producción para tratamientos eficaces, deben reforzarse a nivel mundial (11)

Las Directrices establecidas por la OMS consideran todos los pasos involucrados en la producción, control y regulación de venenos y antiveninas, así como un apéndice que proporciona información detallada sobre las distribuciones de los venenos de serpientes más importantes para su uso en la preparación de antiveninas en cada país, territorio o área geográfica. En la producción de antiveninas de serpientes y escorpiones, se aplican las buenas prácticas de fabricación, por lo que éste debe ser el objetivo de todos los países que participan en la fabricación de productos biológicos para salvar vidas. Además de la necesidad de producir antiveninas, otro aspecto que debe abordarse entre sus objetivos es garantizar que las antiveninas se utilicen adecuadamente y que los resultados para los pacientes envenenados sea su restablecimiento en el centro hospitalario.

Entre las directrices generales de la OMS se establece que las antiveninas son el único tratamiento específico para el envenenamiento por mordeduras de serpientes; y que las mismas son producidas por el fraccionamiento del plasma, generalmente obtenido utilizando animales domésticos

hiperinmunizados contra el veneno de referencia. Cuando se inyecta en un paciente humano envenenado, la antivenina neutralizará cualquiera de los venenos utilizados en su elaboración y en algunos casos, también se neutralizarán los venenos de especies estrechamente relacionadas.

Los métodos de purificación se introdujeron para reducir la frecuencia de reacciones antídoto/anticuerpo para la eliminación del fragmento Fc de IgG, lo que impide la activación del complemento y tal vez para reducir la intensidad de la formación de inmunocomplejos responsables de las reacciones finales de las antivenina (Enfermedad del suero).

La incidencia de mordeduras de serpientes en distintas partes del mundo y el reconocimiento de las especies de mayor importancia médica, es fundamental para el desarrollo adecuado de antiveninas monoespecíficas y poliespecíficas en el Mundo. La actualización de los conocimientos para su elaboración por parte de los fabricantes y entes reguladores de antiveninas, radica especialmente en la selección de los venenos, o mezclas de estos, que se utilizarán en la producción y el control de la calidad del producto.

En la Década de los 70, el Laboratorio de Investigaciones de la Universidad Central de Venezuela, inició el estudio de los venenos de serpientes venezolanas. En la década de los 80, se creó el Centro de Biotecnología, estando a cargo del Doctor Héctor Scannone, el Dr. Oswaldo Grillo y la Dra. Alba Vargas. El primer suero elaborado en dicho centro por el Dr. Oswaldo Grillo, fue el anti-crotálico. En 1981 el Dr. Grillo logró producir el suero anti-

botrópico, y, posteriormente, se elaboró el suero antiofídico Polivalente. El programa de sueros comienza oficialmente en el año de 1984. (13)

La antivenina escorpiónica fue elaborada en el año de 1985, tras las investigaciones realizadas por la Dra. Jeannette de Scannone y la Farmacéutica Estrella Cabrera, desde la inoculación de los caballos hasta la preparación del primer lote de producto comercializado. (13)

Tomando en consideración, que el proceso de manufactura de las antiveninas abarca desde la inoculación (Hiperinmunización) de los caballos hasta el producto final, se describirán las etapas que conforman el proceso en su totalidad, y se redactarán todos los procedimientos de operación involucrados en cada una de las etapas, los cuales conformarán el Manual de Procedimientos Estándar de Operación (POEs) del Centro de Biotecnología.

Debido a que Venezuela es uno de los principales países productores de antiveninas y que en el país existe un alto índice de envenenamiento, consideramos que este trabajo es de vital importancia, no sólo para el Centro de Biotecnología, sino para el país, ya que aportará los procedimientos de operación que permitirán optimizar los procesos de fabricación y control de calidad, dando lugar a la mejora continua, con lo cual se favorecerá la calidad y productividad de la institución, aumentando la posibilidad de solucionar los problemas de salud relacionados con el envenenamiento por mordeduras de serpientes y escorpiones.

## **MARCO TEÓRICO**

### **Producción de Antiveninas**

Los sueros hiperinmunes son preparaciones que contienen inmunoglobulinas purificadas de origen animal, las cuales neutralizan específicamente toxinas bacterianas, virus o componentes tóxicos del veneno, de una o más especies de animales ponzoñosos; a los que se les añade un preservativo en el producto final. Pueden comercializarse en forma líquida o liofilizada. El producto líquido es límpido, incoloro o ligeramente amarillento, y está libre de grumos o partículas. El suero liofilizado consiste en un polvo blanco o ligeramente amarillento, que una vez reconstituido, presenta las mismas características de las preparaciones líquidas. (7, 8,9)

Las Antiveninas se obtienen tras un proceso complejo de producción, que implica cuatro etapas fundamentales para garantizar la calidad, seguridad y eficacia del producto final. Ver Figura I.

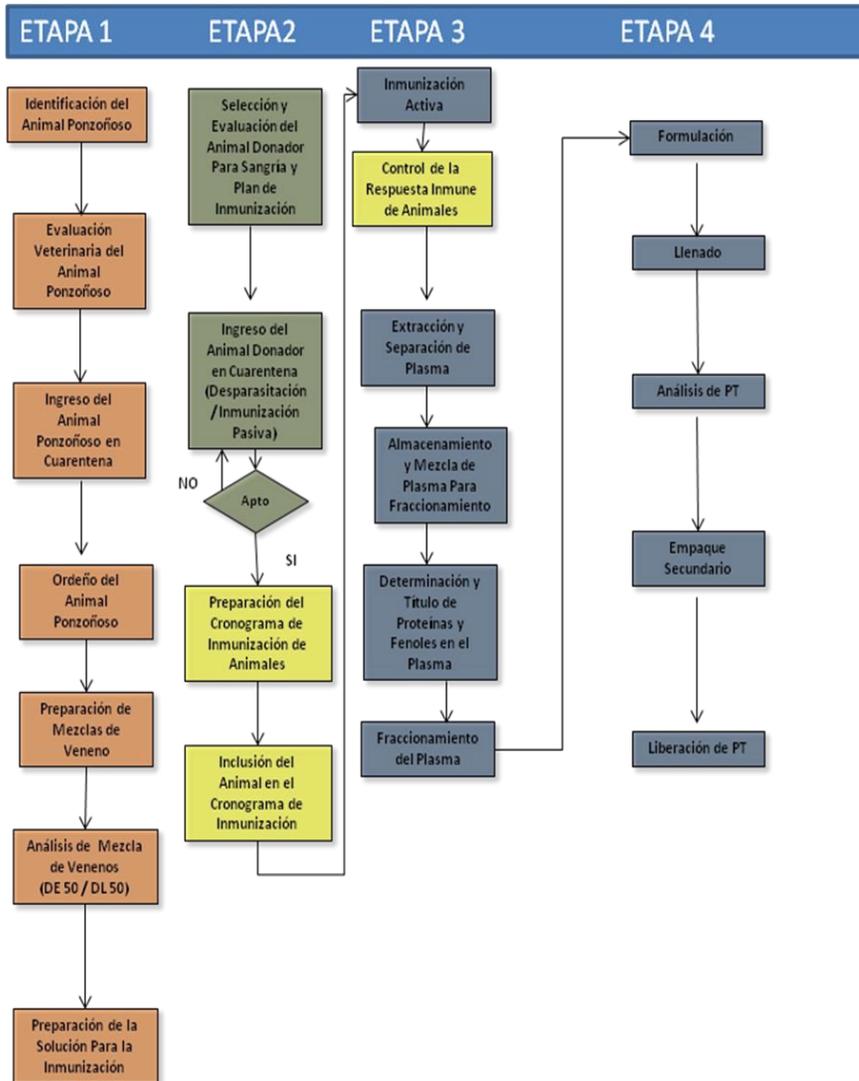


Figura 1 Etapas de la Producción de antiveninas

## Etapa 1.

### 1.1 Identificación del animal ponzoñoso, ingreso a cuarentena y evaluación veterinaria.

Las serpientes y/o escorpiones deben identificarse para evitar errores, colocándoles una etiqueta con los datos individuales de cada uno: especie,

edad aproximada, lugar de procedencia, fecha de ingreso al bioterio. Las serpientes se colocan luego en jaulas individuales; y los escorpiones en número de 5 a 10 por contenedor, especialmente ambientado y con tapa.

Todos los nuevos ingresos deben permanecer durante al menos 2 meses en cuarentena en una sala especial situada lo más lejos posible de las salas de producción, donde las serpientes y escorpiones calificados para el ordeño serán mantenidos.

A su llegada, las serpientes y escorpiones deben ser examinados por un veterinario especializado (o persona con experiencia), y en caso de estar enfermos, solo las serpientes pueden ser tratadas con medicamentos antes de poder ser ordeñadas. . En caso de escorpiones enfermos, estos deben ser sacrificados ya que no pueden ser sometidos a tratamiento farmacológico.

Las serpientes enfermas deben ser tratadas contra los ectoparásitos, con un antiparasitario de amplio espectro; y contra posibles infecciones, especialmente las transmisibles, con antibióticos.

Los animales ponzoñosos enfermos, deben ser tratados y su cuarentena se debe extender durante 2 meses después de su completa recuperación. Los animales enfermos, que forman parte del sistema de recolección de venenos, se pueden tratar in situ, pero no pueden ser ordeñados. Si uno de los animales es tratado con antibióticos, en el caso de una serpiente, esta no debe ser ordeñada durante 4 semanas tras la finalización del tratamiento. En el caso de escorpiones enfermos, estos deben ser sacrificados, ya que no son sometidos a tratamiento farmacológico.

Las serpientes deben ser mantenidas de forma individual, alojadas en jaulas separadas y suficientemente grandes como para permitirles el movimiento. Hay varias opciones aceptables para el diseño de las jaulas. Transparentes o cajas de plástico negro para las serpientes madrigueras. Las jaulas deben estar acondicionadas en cuanto a la ventilación, las perforaciones o malla debe ser lo suficientemente pequeñas para evitar fugas. El interior de la jaula debe ser visible desde el exterior para permitir el mantenimiento y manipulación segura. El acceso a las jaulas será a través de puertas que deben facilitar el manejo sin comprometer la seguridad o permitir que las serpientes se escapen. El material que cubre el piso de la jaula debe ser desechable (por ejemplo, periódicos). El techo de la caja debe ser desmontable, para permitir la extracción fácil y segura de la serpiente, cuando sea necesario, las jaulas deben limpiarse y desinfectarse, de preferencia cuando estén sucias, pero por lo menos una vez cada semana. Las heces y los alimentos no consumidos o roedores regurgitados deben ser eliminados diariamente.

Se debe colocar agua al menos dos días a la semana. El agua debe ser cambiada con frecuencia y tan pronto como se contamine. Esta habitación debe mantenerse lo más limpia posible y limpiarse, al menos, semanalmente. La temperatura y la humedad de la sala deben ser controladas de acuerdo a los requerimientos climáticos de las especies que se encuentran en cautiverio. Debe tener ventilación, aire acondicionado, o garantizar la renovación de los sistemas de aire. El acceso a las salas de serpientes, debe limitarse al personal responsable de su mantenimiento. Quienes deben mantenerlas bajo llave, con

las ventanas clausuradas y/o protegidas por barras, se recomienda el uso de mosquiteros. Los espacios situados debajo de las puertas, deben ser inferiores a 3 mm y todas las aberturas hacia el exterior (por ejemplo, tuberías de agua, conductos de drenaje, entradas y salidas de ventilación) deben estar protegidas por rejillas con agujeros con tamaño menor de 5 mm. La luz de uso frecuente es la natural, sin embargo, cuando no esté disponible, la luz artificial puede utilizarse y deberá estar encendida 12 horas durante el día y apagada durante la noche. La frecuencia ideal de alimentación de las serpientes en cautiverio, depende de la especie y de la edad de la serpiente y esta puede ir desde dos veces por semana a una vez al mes. Las serpientes se alimentan, generalmente, después de ser ordeñadas.

Los procedimientos de limpieza para los serpentarios y las jaulas, en la que las serpientes se mantienen, y el horario de limpieza, deben ser establecidos y documentados. Los animales destinados al consumo de las serpientes, por lo general roedores, deben permanecer en jaulas convencionales, y mantenerse limpios, manipulados y sacrificados de acuerdo con principios éticos.

Para evitar errores de identificación de las serpientes y/o escorpiones, se deben colocar etiquetas con los datos individuales de éstos y deben ser ubicados las serpientes en jaulas individuales y los escorpiones en número de 5 a 10 por contenedor especialmente ambientado con tapa, colocando la fecha de ingreso al Bioterio, lugar de procedencia, especie y edad aproximada.

B.- Todos los nuevos ingresos deben permanecer durante al menos 2 meses, en una sala especial en cuarentena y deben estar situados lo más lejos posible de

las salas de producción donde las serpientes y escorpiones cualificados para el ordeño serán mantenidos. A su llegada, las serpientes y escorpiones deben ser examinados por un veterinario especializado (o una persona con experiencia) contra los ectoparásitos (que deben ser eliminados con antiparasitarios de un amplio espectro) y posibles infecciones, especialmente las transmisibles.

### **1.2.- Mantenimiento, manipulación y ordeño del animal ponzoñoso**

El mantenimiento y la manipulación de los animales ponzoñosos utilizados en la producción de las Antiveninas, deben cumplir con los principios exigidos en las normas: BPM, informe 32, OMS (MPPS, 2004) (14); y la World Health Organization WHO. Guidelines for the production, Control and Regulation of snake Antivenom immunoglobulins. October 2008;(15) las cuales, exigen que todas las operaciones deben describirse detalladamente mediante procedimientos escritos, los cuales deben ser revisados periódicamente de acuerdo con un documento maestro.

Las serpientes pueden ser ordeñadas de acuerdo a un horario regular, dependiendo de la especie. El intervalo entre ordeños varía entre los productores y los rangos van de 2 a 3 semanas, a excepción de los especímenes que se encuentran en cuarentena, o están bajo tratamiento, así como las serpientes que se encuentren en proceso de desprendimiento de la piel.

Los Equipos de manipulación deben ser adecuados según la especie de serpiente, a fin de ocasionar el menor estrés posible y proporcionar seguridad al

operador. Durante el ordeño se recomienda el empleo de ropa protectora, máscara y guantes de vinilo, para prevenir posibles accidentes o infecciones.

Al terminar la recolección del veneno, éste debe ser centrifugado a 1000 rpm durante 5 minutos, ya que de esta forma se eliminan los desechos celulares. Es importante identificar el vial en el que se ha recogido el veneno, con un número de referencia y la serpiente a la cual pertenece como identificación primaria, También debe indicarse en la etiqueta, el día del ordeño, el nombre del operador y cualquier otra información pertinente, con lo cual se permite la trazabilidad del veneno y la identificación de todas las serpientes que se ordeñaron. Luego, el veneno debe ser desecado (colocado en un desecador) y mantenerse a una temperatura entre 20-25 °C.

### **1.3 Selección, preparación y análisis de la mezcla de venenos**

Los fabricantes deben considerar la escogencia del tipo de mezcla de venenos para la inmunización de los caballos, sobre la base de la región geográfica en donde será distribuido el producto final y la experiencia epidemiológica de los entes reguladores de cada país. Cobra gran importancia en este aspecto, aquellas zonas en las que existe gran variabilidad en las especies de serpientes, ya que allí sería de mayor aplicabilidad la antivenina poliespecífica o polivalente, que la monoespecífica. Para el desarrollo de las antiveninas es importante seleccionar los venenos a ser utilizados para la inmunización de los animales, ya que esto es crítico para la producción de antiveninas que tienen la capacidad de cubrir la mayoría de los casos de envenenamiento, en una región

geográfica determinada, territorio o país. La composición de los venenos de serpiente es muy compleja y existe suficiente documentación que reporta que entre las especies existe una alta variación inter e intraespecífica (16). Por lo tanto, en el diseño de la mezcla antigénica que se utilizará en la producción de antivenina, se debe considerar:

- a) La región geográfica donde se utilizará la antivenina,
- b) Las serpientes médicamente importantes de la región geográfica donde el antídoto va a ser utilizado
- c) La variabilidad de la composición de veneno
- d) La información sobre neutralización cruzada de las antiveninas contra los venenos de las especies no incluidas en la mezcla de venenos utilizados, para inmunizar a los animales, al momento de elaborar las antiveninas.

#### **1.4.- Obtención y almacenamiento del veneno**

Los venenos son utilizados para la hiperinmunización de los animales y para realizar los ensayos de potencia de las antiveninas. Su calidad debe ser asegurada durante su obtención para garantizar su trazabilidad, reproducibilidad, características taxonómicas y el control de la higiene de los animales utilizados en el ordeño. Los venenos utilizados para fabricar antiveninas, deben ser representativos de la población de serpientes que viven en el área donde la antivenina se va a utilizar. Para obtener una composición de venenos representativa y con la mínima variabilidad, es imperativo que los mismos se obtengan a partir de un número de especies, por lo general no

menor de 20-50 ejemplares, de una misma localización geográfica. Esto hace necesario que los centros de producción de antiveninas, sean capaces de demostrar que los ejemplares utilizados para obtener el veneno tengan las siguientes características:

- a) La procedencia geográfica y el tamaño (y por tanto la edad aproximada) de cada individuo utilizado para la producción de veneno;
- b) Detalles taxonómicos de cada serpiente utilizada;
- c) La correcta aplicación de lo establecido en la Convención sobre el Comercio Internacional de Especies Amenazadas (CITES), la documentación requerida en el caso de las especies en peligro de extinción;
- d) Las medidas de precaución para evitar la recolección de los venenos de las serpientes enfermas;
- e) La identificación individual de las serpientes y escorpiones que contribuyen a cada lote de veneno,
- f) La trazabilidad de cada lote de veneno

A su vez, los productores de antiveninas deben ser capaces de demostrar:

- a) La identidad taxonómica y el origen geográfico de cada animal que se utilice para la producción de venenos.
- b) El mantenimiento, alimentación y manejo de serpientes y escorpiones de acuerdo a las normas veterinarias y éticas, cumpliendo protocolos documentados.

- c) La capacitación adecuada del personal que participa en la recolección de los venenos en todos los procedimientos, su salud y la aplicación de medidas de seguridad.
- d) Los procedimientos a ser aplicados en los casos en que el personal sea emponzoñado.
- e) El no hacer ordeños de animales enfermos, sino mantenerlos en cuarentena.
- f) La realización de la liofilización o la desecación de los venenos bajo condiciones que garanticen su estabilidad, para el almacenamiento a largo plazo.
- g) Confirmar la DE50, lote a lote, de los venenos del mismo origen.

### **1.5 Control de Calidad de los Venenos, Características Bioquímicas del veneno:**

Es fundamental identificar con precisión la especie de cada serpiente y/o escorpión utilizado para la producción de venenos y el estatus taxonómico debe estar validado por una autoridad competente (herpetólogo), especificando en cada caso, los nombres científicos y el origen biogeográfico de cada animal ponzoñoso, ya que las diferencias en la composición del veneno puede ocurrir entre diferentes poblaciones de la misma especie dependiendo de la zona geográfica donde habita (17). Esta información deberá estar disponible si es requerida por cualquier auditor o autoridad sanitaria de control.

Además de mencionar el nombre científico de la especie de serpientes y escorpiones (subespecies), el origen geográfico y el número de animales utilizados para la preparación del lote, la fecha de obtención del veneno, datos bioquímicos e información biológica de las especies, la información debe incluir un análisis de:

- a. Concentración de proteínas;
- b. Exploraciones o imágenes de dodecil sulfato de sodio electroforesis en gel de poliacrilamida (SDS-PAGE) (en las condiciones de reducción y de no reducción);
- c. Perfiles de exclusión cromatográfica de tamaño molecular (por ejemplo, cromatografía líquida alto rendimiento (HPLC));
- d. Las actividades enzimáticas toxicológicas de los venenos, por ejemplo, dosis letal media, DL50.

## **Etapa 2.**

### **2.1.- Selección del animal donador**

Numerosas especies animales se han utilizado en varias escalas, en la producción de antiveninas (caballo, ovejas, burro, cabra y conejo) o con fines experimentales (camellos, llamas, perros y gallinas) (18, 19).

El caballo es el animal de elección para la producción de antiveninas comerciales, ya que son dóciles, se adaptan a la mayoría de los climas y aportan un gran volumen de plasma (20). También se han utilizado, de manera alternativa, para la producción de antiveninas, las ovejas porque son más

económicas, pueden tolerar mejor los adyuvantes a base de aceite y sus anticuerpos pueden ser útiles en los pacientes que son hipersensibles a las proteínas equinas. Cuando se utilizan las ovejas o las cabras, los fabricantes deben cumplir con las regulaciones de minimizar el riesgo de las encefalopatías espongiformes transmisibles a los seres humanos, según las Directrices de la OMS, sobre la distribución de la infecciones de ese tipo (21).

## **2.2. Evaluación veterinaria, selección y cuarentena de los Animales utilizados en la producción de Antiveninas**

Antes que un animal sea introducido en un programa de producción, hay que someterlos a un período de cuarentena que, en la mayoría de los países, es de 6 a 12 semanas, dependiendo de la fuente, el animal será evaluado periódicamente por un médico veterinario, quien dará el veredicto de su idoneidad para el programa. Cada animal, debe ser identificado inequívocamente, utilizando, por ejemplo, un microchip o un tatuaje.

El examen veterinario debe incluir una prueba serológica que permita detectar la presencia de enfermedades infecciosas en los animales y los mismos, dependiendo de la situación epidemiológica de cada región, deben ser vacunados contra el tétanos u otras enfermedades endémicas, tales como la rabia, la gripe equina, el ántrax, la brucelosis, la peste equina y la encefalitis equina. Se debe incluir además en el tratamiento un programa para eliminar los helmintos intestinales y otros parásitos.

Al terminar el período de cuarentena, si el animal está en buen estado de salud, de acuerdo al chequeo veterinario y los resultados negativos de las pruebas serológicas, el animal puede ser incorporado en el esquema de inmunización. Además de la vigilancia de un profesional veterinario, el personal a cargo de los animales, debe estar adecuadamente entrenado y las operaciones relacionadas con el cuidado y mantenimiento deben estar claramente especificadas en el procedimiento operativo estándar. Durante el tiempo que dura la inmunización de un animal destinado a la producción de antiveninas, se debe mantener la vigilancia veterinaria y éstos deben mantenerse en un régimen de vacunación continua y ser sometidos a pruebas de laboratorio, tales como hemogramas, pruebas de coagulación y otras relacionadas con los posibles efectos de los venenos (22). Se debe vigilar continuamente la respuesta inmune contra los componentes del veneno a lo largo del periodo de vacunación o inmunización, a fin de detectar cuando los animales llegan a un título de antivenina aceptable. Esta respuesta puede ser seguida por la determinación de la potencia en ensayos in vivo de neutralización de la letalidad o por ensayos in vitro, como el inmunoanálisis enzimático (EIA) (siempre y cuando se haya demostrado que existe correlación entre las pruebas in vitro y las pruebas in vivo).

Cada vez que un animal desarrolle cualquier manifestación de enfermedad, debe retirarse de forma temporal de los programas de inmunización, para que pueda recibir atención y tratamiento adecuados. Si la enfermedad está controlada, el animal puede regresar al programa de vacunación, después de un periodo adecuado de tiempo que, generalmente, es de 4 semanas. Si un

animal está recibiendo cualquier tipo de antibiótico o medicamento, debe retirarse del programa de inmunización por un periodo que dependerá de la cinética de eliminación del fármaco en particular. En el caso de la vacunación, este tiempo de espera, no debe ser inferior a 1 mes. Los animales deben tener un régimen adecuado de ejercicio físico. Su alimentación debe proceder de una fuente controlada, idealmente, la dieta debe incluir tanto el heno, como la hierba o materiales de plantas, concentrados y preparados alimenticios que contengan vitaminas como el ácido fólico, hierro, suplementos minerales y otros. Como consecuencia de la inmunización con venenos, un problema común en animales productores de antiveninas, es el desarrollo local de úlceras o abscesos (estériles e infectados) en los sitios de la inyección del veneno. Este es un problema particular, cuando se utiliza veneno necrótico y adyuvante completo de Freund. Todas las inyecciones deben ser administradas en condiciones asépticas. Las áreas ulceradas o infectadas no deben ser utilizadas para una nueva inoculación, hasta que hayan sanado completamente. En caso de muerte de un animal que se encontraba en el programa de producción de antiveninas, se debe realizar un análisis cuidadoso de las causas de la muerte, incluyendo, cuando sea necesario, la realización de una necropsia. Algunos animales con el tiempo, muestran una disminución en los títulos de anticuerpos específicos del veneno, a pesar de estar sometidos a un reposo o a un incremento de las dosis de los venenos, estos deben ser retirados del programa de vacunación.

### **2.3.-Preparación del cronograma de inmunización e inclusión del animal en el programa**

1-Para Inmunización de Equinos se realizan las siguientes actividades:

2-Elaboración de Esquema de inmunización para la obtención de las Antiveninas (calendario), en el cual se fija las fechas de los esquemas bases y de refuerzo

3.- El esquema básico consta de la inmunización utilizando los adyuvantes de Freund completo e incompleto así como 3 inoculaciones de veneno disuelto en solución salina y el esquema de refuerzo consta de una dosis fija de veneno el cual se inyecta utilizando solución salina estéril durante 5 a 6 meses para producir anticuerpos y obtener el plasma con los títulos requeridos para la elaboración del antiveneno.

### **Etapas 3.**

#### **3.1.- Inmunización Activa** Inoculación (Inmunización de los ejemplares):

Para la obtención de resultados satisfactorios es indispensable el seguimiento estricto de un plan de inmunización, el cual comprende:

**Fase 1:** Preparar una emulsión con adyuvante completo de Freund, desde el cual se libera el veneno, tras la inoculación del animal en las zonas dorsales de la columna vertebral produciendo, de esta forma, la estimulación de su sistema inmunológico, creando así la primera respuesta.

**Fase 2:** Inocular al animal una emulsión incompleta de Freund, una semana después de la primera inoculación, para fortalecer la respuesta antígeno-anticuerpo del animal.

**Fase 3:** Inocular soluciones diluidas del veneno en solución fisiológica isotónica y estéril y, realizar sangrías previas del animal a los 10, 12 y 14 días de la última inoculación, para determinar los títulos de anticuerpo del animal.

Uno de los pasos más cruciales en la producción de las antiveninas, consiste en la inmunización de animales con veneno(s) para producir títulos de anticuerpos de larga duración y altos en los componentes nocivos letales y otras toxinas inmunogénicas. Para lograr este objetivo, son importantes las siguientes consideraciones:

- Los venenos a ser utilizados deben ser preparados como se describió en la sección 1.3 - Selección, preparación y análisis de la mezcla de venenos, y deben estar en condiciones óptimas, para lograr la inducción de anticuerpos neutralizantes específicos.
- Los regímenes de inmunización y los inmunógenos, no deberán afectar seriamente la salud del animal.
- La preparación de inmunógenos y el protocolo de vacunación, deberán ser técnicamente sencillos y económicos y debe usarse una cantidad mínima de veneno. Todos los procedimientos a seguir, deben ser incluidos en un protocolo y su desempeño debe estar documentado. El fabricante de antiveninas, es responsable de definir el programa de inmunización adecuada (elección de la dosis, selección de los adyuvantes, sitios de vacunación y horario de sangrado),

capaz de generar la mejor respuesta inmune y la producción de plasma, garantizando, al mismo tiempo, el óptimo cuidado de los animales. Se deben aplicar los principios de BPM en la preparación de la dosis de inmunización, así como en el proceso de vacunación.

La Preparación de las dosis de veneno para la inmunización de los animales, debe realizarse cuidadosamente en un envase limpio, cuyo procedimiento de limpieza debe estar establecido, programado y documentado. Todas las manipulaciones de los venenos, deben llevarse a cabo utilizando técnicas asépticas bajo campana, dada su alta toxicidad. Los lotes de veneno utilizados y los animales a ser vacunados, deben indicarse en los envases. Idealmente, los cálculos y operaciones relacionadas con las dosis de veneno que se utilizarán, así como las diluciones, requieren la verificación por una segunda persona, para garantizar la precisión y para evitar errores que pueden exponer a los animales a recibir una sobredosis. El veneno se debe disolver en agua destilada o solución tampón, pero se debe tomar la precaución de no agitar la solución con demasiada fuerza, ya que se puede causar la desnaturalización de las proteínas del veneno.

Los disolventes utilizados para disolver los venenos deben ser estériles. Se debe preparar una solución madre de cada veneno por separado, en lugar de mezclar los venenos entre sí. Esto se realiza para permitir la flexibilidad de la dosis y para evitar la degradación proteolítica de las proteínas de un veneno por componentes de otro veneno.

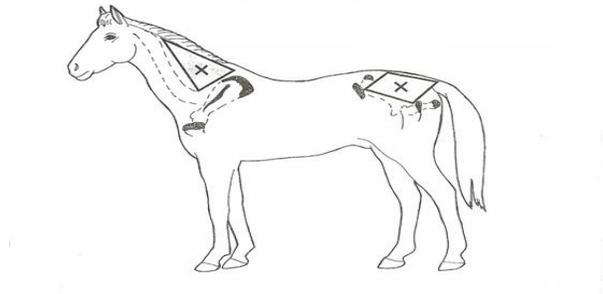
Las soluciones de veneno, deben ser esterilizadas por filtración, para no afectar la potencia de la preparación y, debe tomarse la precaución de elaborarlos al momento de su uso.

Algunos venenos de serpientes y escorpiones, pueden causar efectos locales y/o toxicidad sistémica, cuando se inyectan en caballos al comienzo de un ciclo de inmunización. Aunque la desintoxicación de toxinas (Toxoide), induce a una respuesta de anticuerpos, los anticuerpos no suelen neutralizar la toxina nativa. De hecho, ninguna desintoxicación suele ser necesaria, si la inoculación se hace con una pequeña dosis de veneno bien emulsionado en un adyuvante de Freund.

Entre los adyuvantes más comúnmente utilizados para la inmunización se encuentran los de Freund (completos e incompletos), sales de aluminio (hidróxido y fosfato), bentonita y liposomas (23).

La elección del adyuvante se determina por su eficacia, los efectos secundarios, la facilidad de preparación (especialmente a gran escala) y el costo. El adyuvante incompleto de Freund (FIA), contiene aceite mineral y un emulsionante. El adyuvante completo de Freund (FCA), que contiene aceite mineral, un emulsionante y cepas inactivadas de *Mycobacterium tuberculosis*, se ha demostrado en animales de experimentación, que es uno de los adyuvantes más potentes que se conocen. Sin embargo, los caballos son muy sensibles a la FCA, que tiende a provocar la formación de granulomas. Por esta razón, algunos productores prefieren utilizar otros adyuvantes. Se ha observado que el granuloma por FCA, es debido a la inyección de un gran volumen (5-10

ml) del inmunógeno emulsionado en 1 o 2 sitios. El tamaño del granuloma que se forma, por lo general, se rompe, resultando en una gran herida infectada. Para evitar la formación de granulomas, causada por el inmunógeno emulsionado, se inyectan pequeños volúmenes (50-200  $\mu$ l/sitio) por vía subcutánea en múltiples zonas, según se muestra en la Figura 2.



Figuran 2 Zonas recomendadas para la inmunización de caballos.

### **3.2.-La inmunización de los animales:**

Las áreas a ser vacunadas deben rasurarse y frotarse con un desinfectante como el etanol al 70%, antes de la inyección del inmunógeno. En general, los sitios de vacunación (Figura 2), deben estar en las zonas cercanas a los ganglios linfáticos principales, preferentemente, en el cuello del animal y la espalda.

La trazabilidad del proceso de vacunación es fundamental para el control de calidad de las antiveninas producidas, para asegurarse que se debe realizar con mucha precisión. Cada animal inmunizado, debe ser identificado por su número de código. Los datos que deben registrarse incluyen:

- Fecha de inmunización,
- Lote de veneno utilizado con su número de referencia,
- Dosis de veneno,

- Adyuvante y/o sal utilizada;
- Nombres de los veterinarios y personal de apoyo a cargo de la inmunización;
- Reacciones y/o enfermedades eventuales
- Las inmunizaciones de refuerzo posteriores, se pueden realizar utilizando las dosis de inmunógeno en volúmenes y los intervalos en función del tipo de adyuvante utilizado, hasta que el título de anticuerpos alcance una meseta o un mínimo de título pre-establecido y aceptado.
- Después de la recolección de sangre para la producción de las antiveninas, los animales deben tener un período de descanso de 3-8 semanas. Una vez culminado este período, se puede realizar una nueva ronda de vacunación, como se explicó anteriormente, pero sin el uso de adyuvante completo de Freund.
- Todas las fases de inmunización del animal utilizado, así como la acumulación de sangre o plasma, deben ser trazables

### **3.3.- Extracción de sangre y separación de plasma**

El Plasma es la primera elección como materia prima, ya que los eritrocitos pueden ser retornados a los animales donantes, evitando así la anemia y la hipovolemia de los mismos y, permite además, aumentar la frecuencia de sangrado. La Separación de plasma de sangre anticoagulada, es mucho más rápida que la separación del suero de la sangre coagulada. El plasma, para el fraccionamiento, puede obtenerse a través de la colección de sangre total o por los procedimientos de aféresis.

Se debe realizar un riguroso control sanitario de los animales donantes, antes y durante el sangrado.

Un animal inmunizado podrá ser sangrado una vez que el mismo haya desarrollado el título de anticuerpos que cumple con las especificaciones. Antes que la hemorragia o sangría se lleve a cabo, los animales deben ser evaluados por un veterinario cualificado y debe declararlos saludables. Los animales que muestren evidencia de deterioro clínico, como pérdida de peso, disminución de la hemoglobina o concentración de proteínas de suero por debajo del valor crítico predefinido, o cuando se evidencien infecciones, no se deben sangrar.

Los locales destinados a la sangría de los animales, se deben limpiar y lavar cuidadosamente, antes y después cada sesión de sangría y su diseño debe facilitar los procedimientos de limpieza, que deben estar claramente establecidos. Los animales deben permanecer lo más seguros y cómodos como sea posible, en un entorno tranquilo durante el sangrado, para reducir al mínimo las posibilidades de lesiones de ellos o de sus controladores. Es recomendable, que estas salas permitan el sangrado simultáneo de varios caballos, a fin de reducir el tiempo necesario para esta operación, así como el estrés generado a los mismos.

La extracción de sangre de los animales se realiza por punción venosa de la vena yugular externa. La zona que rodea el sitio de la punción venosa, debe ser rasurada, limpiada y desinfectada antes de la sangría. El área desinfectada no debe ser tocada o palpada antes que la aguja haya sido insertada. Se debe disponer de medios adecuados, que permitan determinar el volumen de sangre

o plasma recolectado (por ejemplo, una máquina de pesaje). El estado clínico de los animales sangrados, debe ser estrechamente monitorizado en el momento del sangrado y durante los días posteriores y, la sangría, debe suspenderse en caso de cualquier efecto adverso sobre el animal. Si un animal muestra signos de daño durante la operación, el procedimiento de recolección debe darse por concluido. Además, los animales deben mantenerse en observación durante al menos una hora después que se realiza el sangrado y no debe observarse evidencia alguna de alteraciones físicas.

La identidad del animal debe ser registrada inmediatamente antes de la venopunción. Las etiquetas de todas las botellas o bolsas contentivas de sangre o plasma, deben registrarse con la identificación del animal. La etiqueta debe contener la siguiente información: la especificidad de la antivenina, el nombre de Recolección y conservación de sangre

El volumen de sangre que se obtiene, depende de la especie y del tamaño del animal inmunizado. Lo que se recomienda es recolectar alrededor de 13-15 ml de sangre por kilogramo de peso corporal, en cada sección de sangría. En el caso de las ovejas, el rendimiento típico es 0,5 L, mientras que en el caso de los caballos, el volumen de sangre puede oscilar entre 3 y 6 litros, dependiendo del tamaño del animal.

La sangre se extrae, idealmente, en bolsas desechables de plástico que contengan una solución de citrato de sodio estéril como anticoagulante.

Por lo general, la relación de volumen del anticoagulante con respecto al volumen de sangre recolectado es 1:9. Cuando no se dispone de bolsas

adecuadas, se pueden utilizar botellas plásticas desechables de polipropileno, o botellas de vidrio esterilizadas con el anticoagulante. La sangre se debe mezclar con la solución de anticoagulante constantemente con movimientos suaves, para garantizar una mezcla homogénea, para evitar los riesgos de la activación en cascada de coagulación y, por lo tanto, evitar la formación de coágulos. La duración de una sesión de sangrado es por lo general entre 30 y 45 minutos, dependiendo del peso del animal y del volumen total de sangre obtenido.

Las bolsas o botellas en las que ha recolectado la sangre extraída, deben ser debidamente limpiadas y debe desinfectarse su superficie externa. Se deben colocar en cavas refrigeradas (2-8°C), durante el proceso de separación del plasma de las células sanguíneas.

Las células sanguíneas, más específicamente, los eritrocitos (glóbulos rojos), deben ser separados del plasma por centrifugación o por procedimientos validados de sedimentación. La reinfusión de eritrocitos, debe llevarse a cabo en el plazo de 24 horas después de la extracción de la sangre y después de haber sido suspendidas en una solución salina estéril a 32 - 37 °C, antes de la perfusión. Este procedimiento, en el que se recoge la sangre total y los eritrocitos, permite que se vuelva a infundir a los animales tales elementos sanguíneos y, comúnmente, se conoce como "aféresis manual".

La prevención de la contaminación microbiana del plasma, se realiza por la adición de conservantes (fenol o cresoles), que se pueden añadir a una dosis de menos de 3 g/L en esta etapa y mantenerse durante el almacenamiento del

plasma. Para impedir que los conservantes produzcan desnaturalización de las proteínas plasmáticas, debe diluirse el fenol o los cresoles con agua o con solución salina, antes de su incorporación al plasma. El transporte de los envases o botellas que contienen mezclas de plasma dentro de la Planta de Producción o entre las instalaciones, debe ser realizado de tal manera que se evite la contaminación y manteniendo, en todo momento, la cadena de frío.

### **3.4.- Fraccionamiento, purificación y diálisis**

Históricamente, el suero se separa de la sangre de los caballos hiperinmunizados, constituyendo esta la base de la "suero-terapia", pero el plasma se utiliza hoy en día como materia prima y se somete a un proceso de fraccionamiento para la separación de anticuerpos purificados. Esta etapa se realiza después de haber determinado el título de anticuerpos en el plasma del animal.

El Fraccionamiento es el proceso de transformación del plasma obtenido por separación del paquete globular y el sobrenadante, el cual será tratado con enzimas y sales a diferentes pHs, para la obtención de inmunoglobulinas puras Fab2, que luego serán sometidas a un proceso de diálisis

#### **3.4.1.-Purificación de las inmunoglobulinas**

La purificación de las inmunoglobulinas y fragmentos de inmunoglobulina, para la producción de antiveninas, debe tener como objetivo la obtención de productos de calidad consistente, seguridad y eficacia. Los procesos utilizados

deben adherirse a los principios BPM, que se han desarrollado para productos farmacéuticos. Las BPM cubren todas las etapas o procesos que conducen a la elaboración de las antiveninas, incluyendo el agua utilizada en los procesos, la producción de plasma (selección de los animales y el control de la salud, la producción de venenos y protocolos de inmunización, los envases utilizados para recolección de la sangre y el plasma, las soluciones anticoagulantes y métodos de control de calidad), también incluyen la purificación, almacenamiento, transporte, procesamiento, aseguramiento de la calidad y entrega del producto terminado. Es de especial importancia, el control de los riesgos microbiológicos, la contaminación con partículas y pirógenos, y la existencia de un sistema de documentación que garantice la trazabilidad de todas las etapas de producción. Para establecer una trazabilidad satisfactoria de la antivenina producida, todos los pasos del procedimiento de purificación utilizados para la preparación del lote de antiveninas deben ser cuidadosamente registrados en los documentos para tales fines y, deben haber sido aprobados para los respectivos lotes de producción. El muestreo debe hacerse en pasos críticos establecidos para la calidad durante el proceso.

Las directrices de la OMS, sobre las buenas prácticas de fabricación de medicamentos (24) y los principios de las BPM para la fabricación de productos a base de plasma sanguíneo de origen humano (25, 26), sirven de guía para las prácticas de fabricación en la producción de antiveninas. Una referencia útil, en el ámbito de producción antiveninas, es la norma sobre la producción y control

de calidad de las inmunoglobulinas de los animales y sueros inmunes para uso humano (CPMP/BWP/3354/99) (27).

Las antiveninas se elaboran a partir de la mezcla de plasma, para lograr uno de los siguientes principios activos:

- Las moléculas de IgG intacta;
- F (ab')<sub>2</sub> fragmentos, o
- Fragmentos Fab.

En general, los procedimientos de fraccionamiento no deben perjudicar la actividad neutralizante de los anticuerpos, por el contrario, deben dar como resultado un producto de características físico-químicas y pureza aceptables, con un contenido bajo de agregados de proteína, libre de pirógenos y que proporcione una buena recuperación de la actividad de los anticuerpos.

Se deben establecer, claramente, las características del lote de plasma a ser fraccionado y los métodos utilizados para purificar la sustancia activa, así como los controles durante el proceso, deben ser descritos en detalle en los procedimientos operativos estándares.

#### **3.4.2.-Purificación de IgG intacta.**

La mayoría de los laboratorios han desarrollado protocolos de fraccionamiento basados en los procedimientos, empleando sulfato de amonio o sulfato de sodio (28). Los protocolos de fraccionamiento suelen dar lugar a una recuperación de los anticuerpos de entre el 40 y el 50% y para la formación de agregados de proteínas. El producto final, de este procedimiento, puede contener una

proporción relativamente alta de proteínas contaminantes, tales como la albúmina (29). Si quedan trazas de albumina, está en peligro la seguridad del producto, ya que se ha reportado una alta incidencia de reacciones adversas en respuesta a las antiveninas de IgG intacta (30).

El uso de ácido caprílico, como agente de precipitación de las proteínas del plasma animal, ha sido descrito en la literatura (31). La Figura 3, ilustra un proceso en el que se añade ácido caprílico lentamente al plasma sin diluir, con agitación constante, para alcanzar una concentración del 5% (v/v) y ajustando el pH 5,5, de ser necesario. La mezcla se agita manteniendo una temperatura de 22-25°C, durante un mínimo de una hora. Las proteínas precipitadas se eliminan por filtración o centrifugación y se luego descartan. El sobrenadante que contiene las inmunoglobulinas, se somete a filtración de flujo tangencial, a fin de eliminar el ácido caprílico y las proteínas residuales de bajo peso molecular, en función de la estructura molecular de corte de las membranas de ultrafiltración, y para concentrar las proteínas. La solución es inmunoglobulina formulada por la adición de solución de cloruro sódico (NaCl) como isotonzante, un agente antimicrobiano y cualquier otro excipiente necesario, tal como un agente estabilizador. El pH se ajusta a un valor neutro y, finalmente, es sometido a filtración esterilizante a través de un filtro de tamaño de poro de 0,22 micras y es envasado en viales o ampollas. Los fraccionamientos con ácido caprílico permiten la producción de antiveninas de pureza relativamente alta y con un bajo contenido de proteína total, ya que las inmunoglobulinas no precipitan. El rendimiento puede ser de hasta 60-75% de la actividad en el

plasma de partida, dependiendo de los detalles del procedimiento y/o del equipo utilizado.

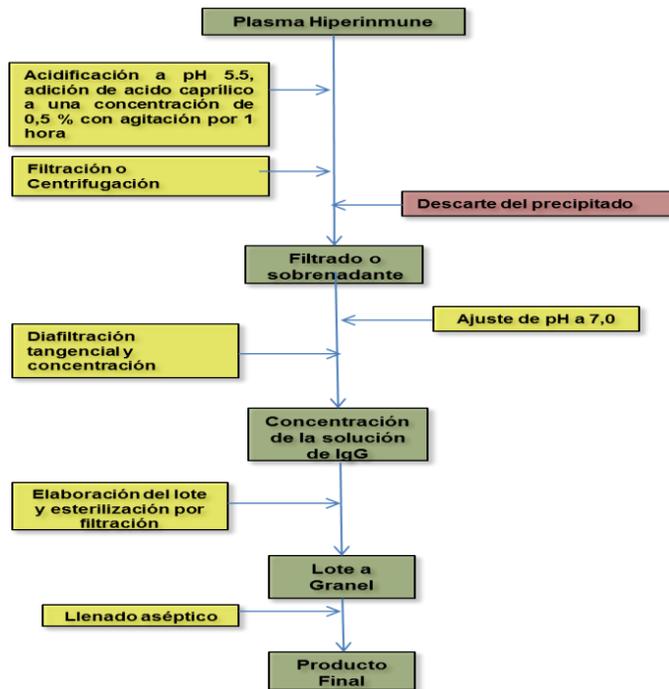


Figura 3 Fraccionamiento de Plasma Purificación de IgG

### 3.4.3.- Purificación de F (ab')<sub>2</sub> antiveninas

El protocolo clásico para la producción de antiveninas desarrollado por Papa, se basa en la purificación de las F (ab')<sub>2</sub> (5,6) y en la actualidad, ha sufrido una serie de modificaciones (32). El método de la digestión de pepsina (Figura 4), consiste en la digestión de las proteínas del plasma de caballos por la pepsina, lo que lleva a la degradación de muchas proteínas no-IgG, y la ruptura de IgG en fragmentos F bivalente (ab')<sub>2</sub> y la digestión del fragmento Fc en péptidos pequeños. El mismo consta de una etapa de calentamiento y la purificación de F (ab')<sub>2</sub> fragmentos por salinización con sulfato de amonio. Algunos

procedimientos implican realizar el paso de la digestión de pepsina en una fracción de IgG pre-purificada que se obtiene por tratamiento de plasma con sulfato de amonio, para obtener un precipitado de IgG enriquecido, mientras que la albúmina no precipita. La digestión con pepsina se lleva a cabo a un pH de 3.0-3.5. Un protocolo típico se basa en la incubación a pH 3,3 durante una hora a 30-37°C, en una marmita de doble camisa, con una concentración de pepsina de 1 g/L.

Después de la digestión de la pepsina, se ajusta el pH a 4.5-5.0, mediante la adición de NaOH o un tampón alcalino débil; luego se añade con agitación constante el sulfato de amonio, hasta lograr una concentración final de 12% (p/v). El precipitado se elimina por filtración o centrifugación y el filtrado o el sobrenadante, es tratado en calor, generalmente, a 56°C durante una hora, proceso conocido como "termo coagulación", luego la preparación se enfría a menos de 30°C, por ejemplo, haciendo pasar agua fría por una marmita de doble camisa. La fracción resultante se filtra o se centrifuga para eliminar el precipitado. El pH se ajusta para 7.0-7.2 con NaOH, y se procede a añadir, con agitación constante, una solución de sulfato de amonio a una concentración final lo suficientemente alta como para precipitar el fragmento F (ab')<sub>2</sub>, por lo general, al 23% (p/ v) o mayor. Después de una etapa de filtración o centrifugación adicional, el F (ab')<sub>2</sub> precipitado se disuelve y, a continuación, se desaliniza para eliminar el sulfato de amonio y se concentra preferentemente por diafiltración por flujo tangencial. Se debe evitar la formación de agregados, por mezclado suave y rápida disolución del precipitado.

Las soluciones de  $F(ab')_2$  se formula, para la obtención de la antivenina final, mediante la adición de NaCl, un agente antimicrobiano y cualquier otro excipiente de utilidad para la formulación, como estabilizadores de proteínas y, finalmente, se ajusta pH a un valor neutro. Por último, la preparación se esteriliza por filtración a través de filtros de 0,22 micras, y se distribuye en los envases definitivos (viales o ampollas). El rendimiento de este protocolo de fraccionamiento oscila entre 30% y 40%.

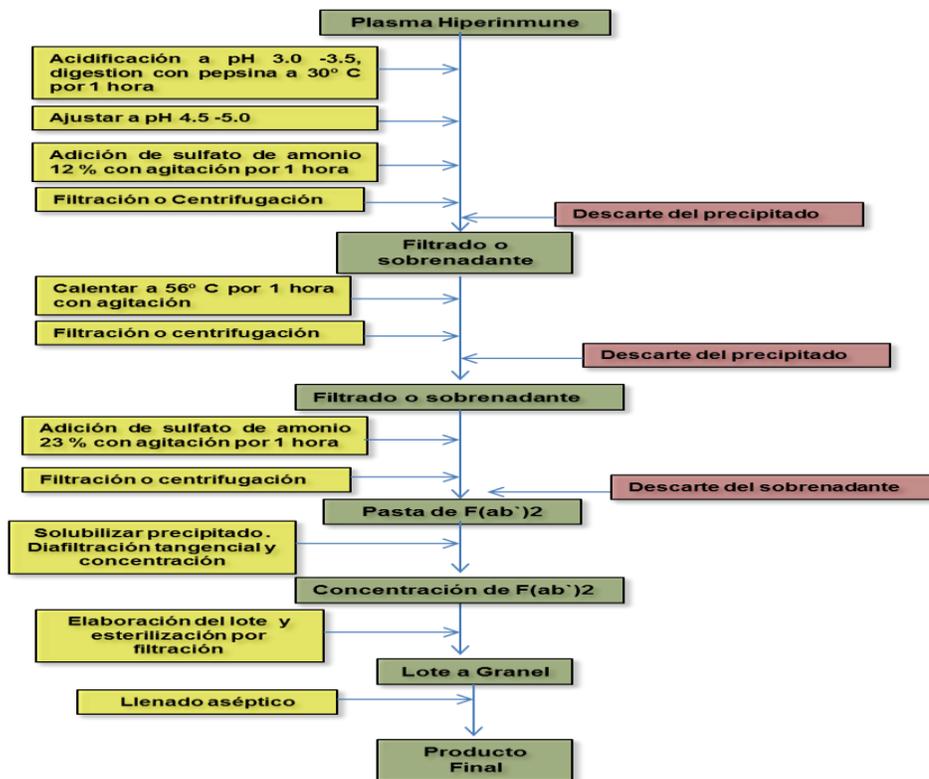


Figura 4 Fraccionamiento de Plasma por purificación de fragmentos de  $F(ab')_2$

#### 3.4.4.- Purificación con ácido caprílico de $F(ab')_2$

Se ha demostrado que en los ensayos experimentales, un proceso de precipitación con ácido caprílico de las proteínas no- $F(ab')_2$ , después de la

digestión enzimática con pepsina mejora el rendimiento hasta alrededor de 60% (33), pero dicho rendimiento no ha sido confirmado a escala industrial. La Figura 5, muestra un esquema de fraccionamiento de  $F(ab')_2$  con ácido caprílico.

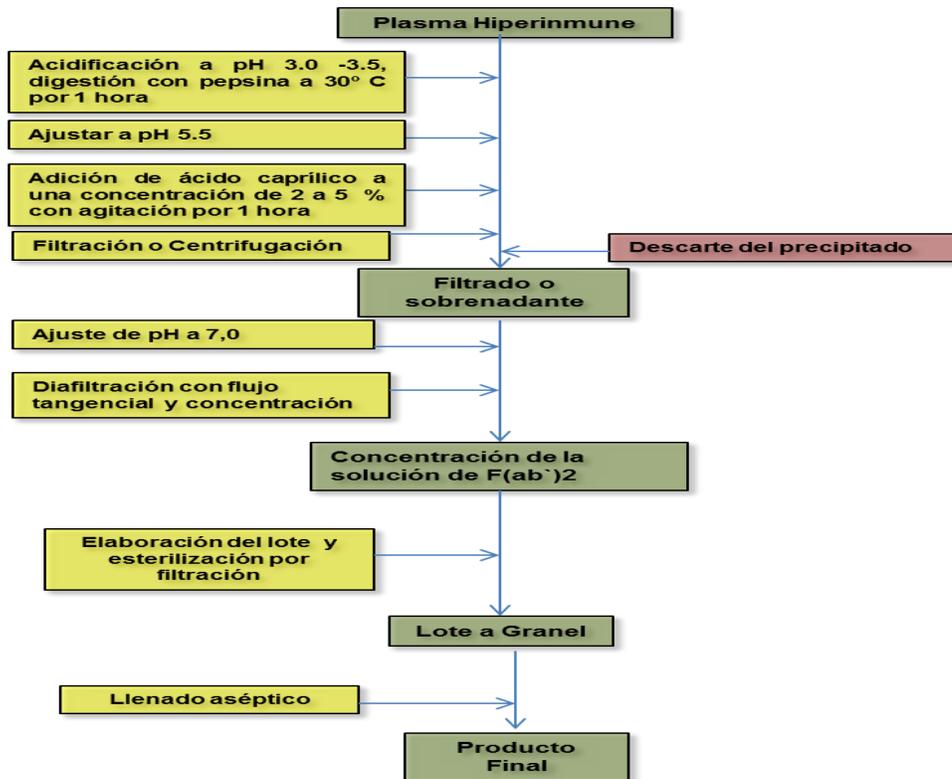


Figura 5 Fraccionamiento de Plasma por purificación de fragmentos de  $F(ab')_2$  con digestión con pepsina y precipitación con ácido caprílico

### 3.4.5.- Purificación de antivenenos Fab

La producción de fragmentos Fab monovalente, se lleva a cabo por algunos fabricantes (34), en la actualidad, a partir de plasma ovejas hiperinmunizadas. La papaína se utiliza para llevar a cabo la digestión enzimática y en el proceso de preparación del fragmento se puede utilizar sulfato de amonio, sulfato de

sodio o ácido caprílico. La Figura 6, muestra un proceso en el que las inmunoglobulinas se precipitan a partir del plasma, mediante la adición de sulfato de amonio o sulfato de sodio a una concentración del 23%. Después de la filtración, el sobrenadante se descarta y el precipitado (inmunoglobulina) se disuelve en una solución de cloruro de sodio a pH 7,4. La papaína se añade y se realiza la digestión a 37°C, durante 18-20 horas, en una marmita de doble camisa. La reacción se detiene añadiendo yodo acetamida. El producto se lleva a un sistema de diafiltración, para eliminar al yodo acetamida, las sales y los péptidos de bajo peso molecular y es tamponada con solución isotónica de NaCl. Después de la última diafiltración o diálisis, el producto se formula mediante la adición de NaCl, agentes antimicrobianos y se realiza el ajuste del pH. Finalmente, la preparación es esterilizada, filtrada y envasada.

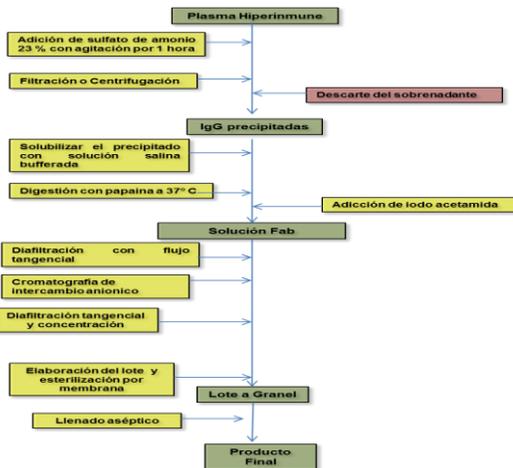


Figura 6 Fraccionamiento de Plasma por purificación de fragmentos de Fab digestión con papaína y precipitación con sulfato de amonio

### 3.4.6.- Diálisis

Es la etapa final de la purificación de las inmunoglobulinas, a las cuales se le extraen las sales utilizadas para la precipitación, por un proceso de ósmosis,

proceso que se realiza en cavas a 4°C, con agua destilada fenolada que, mediante el mismo proceso de osmosis, atraviesa las membranas del celofán y preserva el dializado de la contaminación.

Otro método utilizado para la obtención de inmunoglobulinas puras, es la concentración a través de membranas de ultrafiltración pellicons o diafiltración tangencial.

Luego de haber cumplido un periodo de maduración de 1 mes, los dializados serán medidos y analizada su capacidad neutralizante contra venenos específico. Luego serán diluidos con agua isotonizada y preservada, siguiendo lineamientos de la OPS. Se determinarán los valores de proteínas, cloruro de sodio y preservativos, para luego ser esterilizados por un proceso de filtración por membrana. Posteriormente se procederá al envasado estéril de las antiveninas en viales de 10 ml o 5 ml. Por último, se determinaran las pruebas de inocuidad y esterilidad sobre el producto final.

### **3.5.- Análisis del plasma**

La adición de conservantes para prevenir la contaminación bacteriana y fúngica, debe ser la mínima requerida durante el almacenamiento del plasma y durante el fraccionamiento. Su inclusión en el proceso de fabricación, debe estar claramente justificada, y nunca debe sustituir a cualquier aspecto de las BPM. Los agentes antimicrobianos que se utilizan, actualmente, en la formulación de antiveneno incluyen fenoles y cresoles. En general, la concentración de fenoles se ajusta a 2,5 g / l, y la concentración de cresoles debe ser inferior a 3,5 g / l.

### **3.5.1.- Control de Calidad del Plasma antes del Fraccionamiento**

Antes del fraccionamiento, las mezclas de plasma deben ser revisadas macroscópicamente para evidenciar precipitados, hemólisis y la contaminación bacteriana (prueba de carga biológica), de lo contrario no podrán ser utilizadas.

Las mezclas de plasma deben desecharse si la carga biológica supera el límite definido o si la prueba de neutralización está por debajo del límite mínimo establecido. Los plasmas, por debajo de los límites de carga biológica definida, podrán seguir utilizándose para fraccionamientos, siempre que se haya demostrado que el proceso de fraccionamiento y la calidad del producto no se vean perjudicados.

### **Etapas 4:**

#### **4.1.-Producto en proceso, Producto a granel y Producto Terminado**

Las características biológicas, físicas y químicas del producto a granel, deben cumplir con las especificaciones preestablecidas antes del envasado. El análisis puede incluir pruebas que permitan demostrar:

- La pureza y la potencia del producto; esterilidad; cumplimiento de las especificaciones de potencia; límite de pirógenos y/o el contenido de endotoxinas bacterianas y la formulación. La integridad de la membrana de filtración debe garantizarse antes de la esterilización y, además, el llenado aséptico debe ser validado.

Cuando una antivenina cumple con todas las pruebas de control de calidad establecidas para el producto final, deben ser etiquetados e identificados, con al

menos, la siguiente información: nombre del producto y del productor; animal inmunizado utilizado; número del lote; presentación farmacéutica (líquido o liofilizado); volumen; vía de administración; especificidad (neutralizada por el antiveneno, que incluye tanto el nombre común, como el nombre científico de la(s) especie(s) ponzoñosa(s); potencia neutralizante; condiciones de almacenamiento, y fecha de expiración. Información adicional, puede ser solicitada por las autoridades nacionales de reglamentación. El prospecto debe incluir toda la información relativa al producto, según lo establecido por los organismos nacionales de reglamentación, incluyendo: neutralización de la potencia; dosis recomendada; procedimiento de reconstitución, si el producto es liofilizado; modo de administración (por ejemplo, la dilución de antivenina en un fluido portador, como la solución salina); velocidad de administración; información sobre los síntomas y el tratamiento de las reacciones adversas tempranas y tardías; especies de animales ponzoñosos contra las cuales el antídoto es efectivo; condiciones recomendadas de almacenamiento y la indicación de que el producto es para uso individual.

#### **4.1.1-Control de Calidad de las antiveninas**

El control de calidad del producto en proceso, a granel y terminado es un elemento clave en el aseguramiento de la calidad de las antiveninas. Se deben realizar las pruebas analíticas que garanticen el control de cada fase de la producción, las cuales se definen seguidamente:

#### **4.1.2.-Control en proceso**

Algunas pruebas de control deben realizarse durante el proceso, entre ellas, la prueba de potencia o la detección de residuos de reactivos utilizados durante el fraccionamiento.

#### **4.1.3.-Control del Producto a granel (producto en ampollas y viales)**

Las Pruebas de control de calidad del producto a granel deben ser realizadas por el fabricante o bajo su supervisión, antes del empaclado en su envase secundario y del lanzamiento del producto al mercado. Los resultados obtenidos deben cumplir las especificaciones aprobadas para cada producto o su antídoto intermedio y forman parte del registro del lote. Los controles a realizar son los siguientes:

##### **4.1.3.1-Características organolépticas.**

La apariencia del producto (por ejemplo, el color del líquido y el aspecto del polvo), debe cumplir con la descripción contemplada en el expediente de comercialización.

##### **4.1.3.2.-Identificación**

Cuando varios tipos de antiveninas son producidos por un solo laboratorio, la identidad de cada lote se debe comprobar. Los ensayos pueden incluir pruebas de identidad biológica, así como, pruebas físico-químicas y pruebas inmunológicas.

En el caso de los laboratorios que utilizan diversas especies de animales domésticos en la producción de Antiveninas, como caballos y ovejas, deben realizar la prueba de identidad inmunológica, la cual se utiliza para identificar las especies de mamíferos en los que las antiveninas se producen. La prueba de potencia contra el veneno, es otra manera de identificar las antiveninas.

#### **4.1.3.3.- Solubilidad (en preparados liofilizados)**

Se debe determinar el tiempo transcurrido desde la adición del disolvente hasta la disolución completa de las antiveninas liofilizadas, mezclando suavemente. Las antiveninas deben disolverse por completo en 10 minutos, a temperatura ambiente. La solución no debe ser turbia. La agitación del vial se debe evitar para prevenir la formación de espuma.

#### **4.1.3.4.- Determinación del pH**

El pH de las antiveninas debe ser determinado con un potenciómetro calibrado.

#### **4.1.3.5.-Volumen extraíble**

El volumen extraíble del vial, debe estar en conformidad con lo indicado en la etiqueta.

#### **4.1.3.6.-Osmolalidad**

La osmolalidad se puede medir para determinar la tonicidad de la solución de la antivenina. Se recomienda que sea al menos de 240 mosmol/kg. Su

determinación es también un medio indirecto para determinar la cantidad de sales o excipientes añadidos a la formulación del lote.

#### **4.1.3.7.-Concentración de cloruro de sodio y otros excipientes**

La concentración de los distintos excipientes o estabilizadores añadidos para la formulación se determinarán empleando los métodos químicos adecuados.

#### **4.1.3.8.- Concentración de conservantes o preservativos**

El rango aceptable de concentración de conservante en las antiveninas, debe ser establecido y validado en cada laboratorio fabricante. La concentración de fenol no debe exceder de 2,5 g / l y las de cresoles 3,5 g/ l.

La concentración de fenol se puede determinar espectrofotométricamente sobre la base de la reactividad de fenol y 4-aminoantipirina, bajo condiciones alcalinas (pH 9.0 a 9.2), en presencia de ferrocianuro potásico como oxidante. Otros métodos están también disponibles. Los cresoles se pueden determinar por métodos de HPLC.

#### **4.1.3.9.-Determinación de agentes químicos utilizados en el fraccionamiento del plasma**

Los reactivos químicos utilizados en la precipitación y purificación de antiveninas, como el sulfato de amonio, ácido caprílico y otros, deben ser eliminados del producto final durante el proceso de diafiltración o el de diálisis.

#### **4.1.3.10.- Humedad residual (preparados liofilizados)**

El contenido de humedad residual puede ser determinado por varias metodologías, tales como:

- Un método gravimétrico para evaluar la pérdida de peso mediante calentamiento;
- La valoración por el método de Karl-Fischer, con base en el principio de que el yodo, junto con la piridina, el dióxido de azufre y el metanol, reaccionan cuantitativamente con agua,
- El método termo gravimétrico.

La metodología más comúnmente recomendada es la valoración de Karl-Fischer. Cada fabricante y laboratorio de control de calidad deberá establecer el máximo de humedad residual aceptado para su antídoto, a fin de garantizar la estabilidad del producto durante su vida útil. Se recomienda un contenido de humedad residual inferior al 3%, para la mayoría de los productos terapéuticos de origen biológico, en forma de liofilizado.

#### **4.1.3.11.- Concentración de proteínas**

La concentración de proteína total de las antiveninas, se realiza utilizando el método de Kjeldahl, para la determinación de nitrógeno. Por otra parte, varios procedimientos colorimétricos se pueden utilizar, así como, medir la absorbancia a 280 nm. La presencia de conservantes debe tenerse en cuenta, ya que pueden interferir con algunos métodos de determinación de la proteína.

#### **4.1.3.12.-Pureza de la Inmunoglobulina Intacta.**

La sustancia activa, es decir, fragmentos de inmunoglobulina o inmunoglobulina intacta, debería constituir gran parte de la preparación. Lo ideal sería que fuese superior al 90%. Los métodos electroforéticos en geles de poliacrilamida (SDS-PAGE realizados en condiciones de reducción y/o no reductor), son adecuados para este propósito, ya que estas técnicas permiten la detección y seguimiento de la IgG, F (ab')<sub>2</sub>, Fab, no contaminantes, inmunoglobulinas y proteínas plasmáticas (en especialmente la albúmina), y productos de degradación. El patrón electroforético debe compararse al de una preparación de referencia.

#### **4.1.3.13.-Potencia o neutralización del veneno:**

Esta prueba determina la efectividad del antídoto necesario para neutralizar las actividades tóxicas del veneno. La primera parte de la prueba, para determinar la actividad letal del veneno, se denomina dosis letal media (DL50) de ensayo y, por lo general, se utilizan ratones de un rango de peso definido (por ejemplo, 18-20 g). Para venenos nuevos, cuya DL50 se desconoce, se recomienda un estudio dentro de un rango de dosis de veneno, que permita determinar la dosis, utilizando un ratón por dosis de veneno. Se realiza de esta forma, para evitar el uso de un número excesivo de animales. También hay que considerar, posibles variaciones en la susceptibilidad debida a las diferentes cepas de ratones cuando se determina el efecto letal de los venenos.

#### **4.1.3.14.- Prueba para evaluar la potencia neutralizante de una antivenina (DE50)**

La dosis efectiva media (DE50) de una antivenina se define como el volumen de suero que protege al 50% de los ratones inyectados. La DE50 se puede expresar de varias maneras:

- mg de veneno neutralizado por mL de suero;
- ml de antídoto necesario para neutralizar la dosis de "desafío" del veneno utilizado;
- L de antídoto necesario para neutralizar un mg de veneno; y,
- Número de DL50 de veneno neutralizado por cada mL de antivenina.

Cada laboratorio de producción, así como todas las Agencias Nacionales de reglamentación, deben establecer los niveles aceptados para neutralizar la potencia de las diferentes antiveninas que se producen y distribuyen. En este sentido, es importante garantizar que un ensayo estandarizado sea utilizado por los laboratorios de fabricación. Dado que la metodología para estimar la potencia de las antiveninas (DE50), varía entre los laboratorios y los países. Por consiguiente, los fabricantes deben revelar a las agencias reguladoras correspondientes, las condiciones bajo las cuales se calcula la potencia de sus antiveninas en el curso de la concesión de licencias y procedimientos de control. Los protocolos para la selección y control de calidad de los venenos utilizados para estos ensayos de potencia, deben ser establecidos en cada país. La DE50 se determina en un intervalo de ensayo de la siguiente manera: Se toman de 3 a 6 DL50 del veneno, denominada dosis de "desafío", se diluyen

en solución salina (35,36), se mezclan con diferentes dosis de antiveninas y se incuban a 37 °C durante 30 minutos. Posteriormente, esta mezcla se le inyecta a un solo ratón. Este ensayo preliminar, debe producir una gama de volúmenes de antiveninas que den como resultado un 100% de ratones vivos y un 100% de ratones muertos. En consecuencia, limita el rango de dosis requerido para la determinación

Seguidamente, un grupo control de ratones es inyectado con una mezcla del veneno, "dosis de prueba", con solución fisiológica sola (no hay antídoto), lo que debe confirmar que el veneno induce letalidad 100%. Cuando la prueba se realiza por vía intraperitoneal, se debe administrar un volumen de 0,5 ml. La centrifugación de las mezclas veneno no se recomienda debido a la toxicidad del veneno residual que puede quedar en la fracción inmuno precipitante. Después de la inyección, las muertes se registran a las 24 horas (prueba por vía intravenosa) o a las 48 horas (prueba Intraperitoneal) y los resultados son analizados utilizando el análisis de Probit (35), Spearman-Kärber (37).

#### **4.1.3.15.- Ensayo de la Dosis Letal Media (DL50):**

La DL50 de un veneno, se define como la cantidad mínima de veneno que causa la muerte en el 50% de los ratones inoculados. La prueba se realiza de la manera siguiente:

Se seleccionan grupos de 5-6 ratones, con un rango de peso entre 18 a 20g. Se inyectan por vía intravenosa, en la vena de la cola, con un volumen exacto (0,2-0,5 ml) de soluciones con distintas dosis de veneno, previamente disuelto en

solución salina estéril. Se recomienda el uso de un mínimo de 5 ratones, a fin de obtener un resultado estadísticamente significativo. En algunos laboratorios, se calcula la DL50 por vía intraperitoneal con un volumen de inyección de 0,5 ml. Las muertes se registran a las 24 horas o a las 48 horas, cuando se utiliza esta vía. La DL50, se determina mediante el análisis Probit (35), Spearman-Kärber (37).

#### **4.1.3.16.-Inspección de los viales**

Todos los viales o ampollas de cada lote de suero líquido deben ser inspeccionados, ya sea visualmente o mediante un dispositivo mecánico. Cualquier vial o ampolla que presente turbidez, coloración anormal, material particulado, defectos del envase, tapón o anillo de aluminio, debe ser desechado. En el caso de los productos liofilizados, una muestra representativa del lote debe ser disuelta en el disolvente adecuado y ser inspeccionada. La inspección debe incluir: aspecto, color, ausencia de partículas, fibras; sellado hermético.

#### **4.1.3.17.-Prueba de esterilidad**

Las antiveninas deben estar libres de bacterias y hongos, es decir, deben ser estériles. La prueba de esterilidad se realiza siguiendo metodologías especificadas en las farmacopeas, tales como la farmacopea europea y la USP. Debido a que las antiveninas pueden contener conservantes en su formulación, es necesaria la neutralización de los agentes conservadores. Esto

se realiza generalmente, mediante la filtración de un volumen de antiveninas a través de una membrana con un tamaño de poro de 0,22 micras y luego se filtra a través de la membrana una solución que neutraliza los efectos bacteriostáticos y fungistáticos de los conservantes utilizados en su elaboración. La membrana se corta en dos mitades en forma aséptica. Una mitad se coloca en caldo de tripticasa soya caseína y la otra, se en medio tioglicolato.

Los caldos se incuban durante 14 días: Tripticasa soya caseína a 20-25 ° C, y Tioglicolato a 30-35 ° C Durante ese período de tiempo, se examinan diariamente, para evidenciar el crecimiento de bacterias u hongos. El número de viales que conforman la prueba por lote, debe estar en conformidad con las regulaciones locales.

#### **4.1.3.18.- Prueba de Pirógenos**

Las antiveninas deben cumplir con la prueba de pirógenos en conejos, cuando lo exija la normativa local. Esta prueba se basa en la inyección intravenosa de suero en la vena de la oreja de los conejos (por lo general 1,0 ml por kg de masa corporal), seguida por la medición de la temperatura rectal a distintos intervalos de tiempo después de la inyección. Los procedimientos detallados se describen en las farmacopeas.

Los lipopolisacáridos bacterianos también pueden ser detectados por el lisado de amebocito limulus (LAL). El ensayo debe ser validado para cada tipo de antivenina, ya que ha habido reportes de falsos positivos y falsos negativos, cuando se realizan estas pruebas en las antiveninas y otros productos

derivados del plasma. La sensibilidad de la prueba del LAL, debe correlacionarse con la prueba de pirógenos en conejos y con los límites de endotoxinas. Cuando la regulación de cada país lo permite, una prueba del LAL validada puede ser utilizada, en lugar de la prueba de pirógenos en conejos.

#### **4.2.- Fabricación**

Durante la formulación de antiveninas tras los pasos de diafiltración, se debe considerar la adición de sales para ajustar la osmolalidad y si es necesario, algunos agentes conservantes para aumentar la estabilidad de las proteínas. Adicionalmente, se debe ajustar el pH. En general, los antiveninas se formulan con un pH neutro ( $\text{pH } 7,0 \pm 0,5$ ), aunque algunos fabricantes están estudiando la viabilidad de formular a un pH más ácido para mejorar la estabilidad y / o para reducir la formación de agregados. No es recomendable formular a pH superior a 7.5, ya que la estabilidad de las inmunoglobulinas y fragmentos a pH alcalino puede ser pobre, y se favorece la formación de agregados.

#### **4.3.- Llenado estéril**

En el caso de las ampollas, el sistema de distribución de la máquina llenadora debe asegurar un cierre en condiciones asépticas y el sellado debe prevenir los riesgos de desnaturalización de las proteínas debido a la producción de calor de llama. En el caso de los viales, la inserción de los tapones de goma, debe ser efectuada en áreas limpias de llenado. La calidad de los tapones de goma debe ser tal que no reaccione con los componentes de la formulación

#### **4.4.- Acondicionamiento del producto a granel: etiquetado y estuchado**

Una de las etapas esenciales en el acondicionamiento de los productos a granel, (ampollas o viales ), es la identificación, realizada de acuerdo a los requisitos exigidos por el ente regulatorios del país fabricante, y/o los exigidos por otros países, donde el producto deba ser exportado,(etiquetas y rotulación de viales). Posteriormente, se coloca en un área de Cuarentena en las condiciones de temperatura y humedad adecuadas, hasta que control de calidad apruebe el Producto. Posteriormente debe ser enviado al ente regulatorio, en nuestro caso, el Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR), con el fin de que el lote sea sometido a pruebas y considerarlo conforme para ser liberado. Esto se denomina Liberación del Lote. Sin esa prueba el producto no debe salir al mercado.

#### **4.5.- Liberación del lote**

La liberación de los lotes de Productos Biológicos es una responsabilidad compartida entre el fabricante y el ente regulatorio nacional, Instituto Nacional de Higiene Rafael Rangel (INHRR).

Para optar por la liberación del Lote, deben cumplirse los requisitos siguientes:

1. Ubicar la Solicitud de Liberación de Lotes de Productos Biológicos (LLPB) en la página Web [www.inhrr.gob.ve](http://www.inhrr.gob.ve), el formulario F-RCPB-029, la Solicitud de Liberación de Lotes de productos Biológicos (LLPB), o en

su defecto solicitar dicho formulario a través del correo electrónico [divcnpb@inhrr.gob.ve](mailto:divcnpb@inhrr.gob.ve).

2. Llenar un formulario F-RCPB-029 Solicitud de Liberación de Lotes de Productos Biológicos, para cada lote de producto a liberar.
3. Preparar los anexos solicitados en forma impresa en una carpeta con gancho, con los recaudos debidamente separados, adjunte la información en digital en formato pdf en un CD. Cada CD puede contener la información de más de un lote del mismo producto.
4. Inutilizar timbres fiscales por un valor de 0,02 UT por página.
5. Solicitar la cita correspondiente a través de la Web [www.inhrr.gob.ve](http://www.inhrr.gob.ve).
6. El día de la cita entregue: el formulario F-RCPB-029, Solicitud de Liberación de Lotes de Productos Biológicos, los anexos, y un CD con los anexos digitalizados en versión pdf, en la Unidad de Recepción y Coordinación de Productos Biológicos del INH“RR”, Piso dos, Edificio Sede, Ciudad Universitaria, Caracas.
7. La Unidad de Recepción y Coordinación de Productos Biológicos del INH“RR”, revisará la solicitud presentada a fin de constatar la presencia de todos los recaudos exigidos. No se aceptarán solicitudes que presenten recaudos faltantes o algún tipo de enmienda en el Formulario de Solicitud y/o documentos anexos.
8. Una vez revisada, la Unidad de Recepción y Coordinación de Productos Biológicos del INH“RR” asignará un número a cada solicitud y sellará el

formulario F-RCPB-029, Solicitud de Liberación de Lotes de Productos Biológicos, con la fecha de recepción

9. La Unidad de Recepción y Coordinación de Productos Biológicos le devuelve una copia del formulario F-RCPB-029, Solicitud de Liberación de Lotes de Productos Biológicos, sellada (sin anexos), como constancia de recepción de su solicitud.
10. El tiempo estimado de evaluación es de siete “7” días a partir de la recepción de la solicitud de liberación de lotes de productos biológicos. El interesado deberá retirar el certificado de liberación correspondiente en el Departamento de Recepción y Coordinación de Productos Biológicos.

#### **4.6.- Almacenamiento:**

Las Antiveninas deben almacenarse a una temperatura que asegure su conservación durante el tiempo establecido mediante las pruebas de estabilidad. Esto es particularmente crítico para las formulaciones líquidas, que por lo general requieren almacenamiento entre 2 y 8 ° C. Por lo tanto, las desviaciones de este rango de temperatura, debido a interrupciones en la cadena de frío durante el transporte o almacenamiento, es probable que resulte en el deterioro del producto. Las políticas del programa nacional de distribución y vacunación pueden ser adoptadas para el transporte y almacenamiento de las antiveninas.

#### **4.7.- Distribución**

La distribución de las antiveninas y en general de los productos biológicos, especialmente las formulaciones líquidas, es una actividad crítica que demanda mucha atención, respecto a la temperatura y tiempo de transporte. Para solventarlo, es indispensable garantizar la cadena de frío. La manera adecuada es utilizar un transporte climatizado y colocar el producto en cavas provistas de medidores de temperatura (dataloggers), los cuales graban la temperatura durante todo el tiempo que tarda su distribución. Posteriormente se baja la data en la computadora y se conserva en la Historia del Lote.

#### **4.8.- Creación de la Farmacoteca o archivo de muestras de antiveninas**

En cumplimiento de las normas de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), los laboratorios de Control de Calidad del Fabricante, deben archivar al menos, un número suficiente de viales o ampollas de cada lote de producto terminado, para realizar al menos dos ensayos completos del producto.

#### **4.9 Estabilidad**

Los estudios de Estabilidad tienen por objeto demostrar que el producto terminado se mantiene estable y es eficaz hasta la fecha de caducidad establecida en un estudio preliminar denominado Estabilidad Acelerada. Los estudios de estabilidad deben realizarse para determinar la conservación de las especificaciones de calidad de los productos, cada vez que se produzcan cambios en el proceso de manufactura, o cuando se desarrolle una nueva

formulación. Durante algún tiempo, se consideraba empíricamente que los preparados líquidos tenían una vida útil de hasta 3 años, si se conservaban a temperaturas entre 2 y 8 ° C; y los liofilizados, de hasta 5 años, cuando se mantenían en la oscuridad a temperatura ambiente. No obstante, en la actualidad es mandatorio realizar la prueba para determinar la vida útil real de las Antiveninas. Las pruebas de estabilidad en tiempo real deben realizarse bajo las condiciones de almacenamiento exigidas por la autoridad regulatoria del país. En el caso de Venezuela: liofilizados a 30-35°C y 70-75% de humedad relativa; y en el caso de productos líquidos, en las condiciones de almacenamiento del producto establecidas en el Documento de Registro: 2°C a 8°C. Sin embargo, antes del Registro Sanitario, está permitido realizar una prueba acelerada de estabilidad para calcular la vida útil aproximada del producto. Los estudios de estabilidad acelerada se pueden realizar para proporcionar información rápida y útil en el perfil de estabilidad del producto, pero no son un sustituto de los datos en tiempo real. En esta prueba, el antídoto está expuesto a condiciones más críticas de lo habitual, como es una temperatura más alta y la estabilidad se evalúa durante un lapso de tiempo más corto. Durante ambas pruebas se determinan los parámetros críticos del producto, entre ellos: potencia de neutralización del veneno, turbidez, contenido de los agregados, entre otros, ya que estos son especialmente propensos a alterarse durante el almacenamiento.

## **Mejoramiento continuo, Gestión de la Calidad, Normas Aplicadas.**

### **1.- Mejoramiento Continuo y Filosofía de Calidad**

La meta de la industria competitiva respecto a la calidad del producto se puede exponer claramente: suministrar un producto o servicio en el cual su calidad haya sido diseñada, producida y sostenida a un costo económico razonable y que satisfaga por entero al consumidor.

El Aseguramiento de la Calidad es un sistema efectivo cuando es el producto del esfuerzo de todos los integrantes de una empresa para la lograr la integración del desarrollo, el mantenimiento total preventivo y superar las metas de calidad, todo lo cual hace posible el éxito sostenido de las actividades de mercadotecnia, ingeniería, fabricación y servicios para la satisfacción total del consumidor, a un costo más económico. Visto así, el Aseguramiento de la Calidad se constituye en el eje fundamental de la empresa para la motivación de todos los empleados a todos los niveles de la organización hacia el logro de la calidad de forma piramidal, es decir, desde arriba (alta dirección) hacia todos los demás escalones: altos ejecutivos, empleados y representantes de la compañía, hasta trabajadores de ensamble, personal de oficina, agentes y personal de servicio. Bajo esta premisa, podemos asumir que el Aseguramiento de la Calidad tiene una poderosa capacidad para lograr la Calidad “Cero Defectos”. Esto significa: menos productos rechazados, menos reprocesos, menos devoluciones, menos reclamos; y por ende, más productividad, logrando

así el premio que permite el éxito sostenido: “Mejor imagen de la Empresa y de sus productos

Según Burgo, Gerenciando la Productividad (38), “la Filosofía de la Calidad “es una nueva forma de pensar y de ver las cosas, es un cambio actitudinal y cultural, es una manera diferente de enfocar los valores y principios en los cuales, es una manera diferente de enfocar los valores y principios en los cuales se fundamenta la organización, sistematizándolos con sentido de integración y dirigidos a la búsqueda constante de la mejora de la empresa, como un todo”.

La filosofía de calidad hace uso de técnicas y herramientas que persiguen el Aseguramiento de la Calidad a través del control estadístico de procesos y toma de decisiones y con la participación activa de todo el personal y a todo nivel. El uso adecuado de las técnicas y herramientas en función de los principios, combinados apropiadamente, se convierte en un servicio cotidiano y permanente que origina no solo una mejor calidad desde el punto de vista empresarial, sino que mejora la calidad de vida de la gente en el trabajo.

El mejor aporte de la filosofía de la calidad, como nueva filosofía gerencial, es el cambio cultural que origina una actitud crítica positiva, innovadora y la tendencia a profundizar cuando se trate de entender donde esta hoy nuestra organización y donde debería estar mañana para llevarla allí y cual es la mejor manera de hacerlo en beneficio de todos.

La filosofía de calidad se basa en la prevención y tiene seis elementos principales:

Calidad de entrada es decir, calidad en la fuente (proveedor). Calidad de proceso, o sea, construir, fabricar, hacer calidad, eliminando problemas crónicos. Calidad de coordinación, o lo que es igual, de relación interdepartamental para asegurar la calidad. Calidad de concordancia, o el grado en el cual el proceso puede reproducir constantemente las características del diseño, requiriéndose para ello el control estadístico del proceso. Calidad de confiabilidad o de salida, que es el grado en el cual el producto cumple siempre con el propósito para el que fue diseñado, y garantía de mantenimiento y Calidad de visión estratégica a largo plazo.

Para Burgos, Gerenciando la Productividad (38) “La filosofía del Mejoramiento Continuo establece que los empleados y los clientes son lo más importante, que los clientes se sienten insatisfechos cuando no cumplimos con sus deseos y que hay que buscar y obtener calidad en la fuente y eliminar desperdicios”.

Los objetivos o metas que se persiguen son:

1. Mejorar continuamente la calidad para incrementar la productividad;
2. Mantener siempre un nivel competitivo en calidad, precio y servicio; y,
3. Obtener un crecimiento continuo sin traumatismos.

Los principios en que se basa el Mejoramiento Continuo son muy claros:

1. Fabricar de acuerdo con la demanda de los clientes, produciendo cantidades mínimas;
2. Eliminar desperdicios, es decir, todo lo que no agregue valor al producto;
3. Mantener el mínimo de proveedores;

4. Hacer compatibles los intereses de la organización, de los empleados y de los clientes.

5. Mejorar siempre.

Las técnicas a utilizar deben estar orientadas a estandarizar los equipos y los procesos de operación de los productos y procedimientos administrativos: a mejorar el sistema de distribución y reducir lo máximo posible el número de materiales a utilizar y movimientos de insumos y el número de documentos a procesar. Todo esto nos lleva a consumir menos tiempo, utilizar menos espacio y hacer menos esfuerzo, lo que permite dedicar más tiempo a obtener calidad en la fuente.

La calidad en la fuente persigue dos objetivos básicos: primero, identificar los errores o fallas en el lugar y momento en que aparezcan y corregirlos inmediatamente, y segundo, y más importante aun, prevenir los problemas o situaciones que afecten la calidad antes de que ocurran, mediante la mejora del proceso.

### **Beneficios del Proceso de Mejoramiento Continuo**

**Según Burgos, Gerenciando la Productividad,** lo que persigue el Mejoramiento Continuo es la revisión sistemática del ciclo del proceso para eliminar desperdicios en la mayor extensión posible. En síntesis, podemos decir que el Mejoramiento Continuo, (Control Total de la Calidad, Justo a Tiempo y gente), es una filosofía que se orienta a satisfacer consistentemente los requerimientos de los clientes (internos y externos); busca encontrar y eliminar

desperdicios (tiempo, materiales, pasos innecesarios en un proceso, mala utilización del personal, inversiones no necesarias, etc.), con el fin de mejorar constantemente la calidad y productividad; produce resultados a largo plazo (se considera que para que una compañía pueda transformarse en una organización de calidad requiere entre 5 y 10 años); enseña a la gente a exponerse constantemente a los problemas y a resolverlos; establece que no hay nada que no pueda mejorarse por bien que este hecho y que si creemos que nada puede ser mejorado, es porque no hemos buscado bien; se basa en procesos estándar y medidas de variación para los mismos; las especificaciones provienen de las necesidades de los clientes y de los límites de control de los procesos; y considera que la mejor herramienta con que cuenta la gerencia es su gente, en la cual hay que creer y a la que hay que respetar y ayudar.

Las bases en las cuales se sustenta el Mejoramiento Continuo las podríamos resumir en las 12 C's que siempre deben estar presentes. Estas serían las siguientes:

1. Cliente como primera prioridad.
2. Capacitación como segunda prioridad.
3. Constanza en el mejoramiento continuo.
4. Consistencia en la toma de decisiones.
5. Creatividad e innovación.
6. Compromiso de la gerencia.
7. Credibilidad en el sistema.

8. Confianza en uno mismo.
9. Comunicación abierta y sin temores.
10. Criterio uniforme sobre prioridades.
11. Compensación adecuada.
12. Calidad en la fuente, en el proceso, en el producto y vida laboral.

Cumpliendo con todos estos postulados, es cuando podrá aseverarse que esta filosofía producirá un mejoramiento continuo de la organización al entrar en la Gerencia de Calidad o nueva gerencia.

### **Pasos para el Mejoramiento Continuo**

Los proyectos y acciones de mejoramiento departamentales son una parte importante del proceso de mejoramiento de la calidad y productividad, conjuntamente con las acciones dirigidas a racionalizar los procesos dentro de los enfoques justo a tiempo, inventario cero, aseguramiento de la calidad; y adecuación de los sistemas y políticas de recursos humanos para lograr la flexibilidad, multihabilidad del mismo y autocontrol de su trabajo.

### **Los pasos para el mejoramiento continuo son los siguientes:**

1. Normalización de procedimientos, métodos o prácticas operativas.
2. Entrenamiento y desarrollo del personal en las normas y prácticas implantadas.
3. Incorporación de los nuevos niveles de desempeño al proceso de control de gestión de la unidad.

4. Documentación y difusión de la historia del proceso de mejoramiento.

Esta última actividad es de gran importancia para reforzar y reconocer los esfuerzos y logros alcanzados e iniciar un nuevo ciclo de mejoramiento.

Para lograr este objetivo, el presidente, director general o máxima autoridad de la empresa debe hacer la exigencia explícita de desarrollar proyectos de mejora aplicando los conceptos y la metodología de calidad y productividad en el comité que reúne a su nivel inmediato, lo cual debe ser confirmado por escrito, en comunicación dirigida a cada uno de los gerentes.

### **Gestión de la Calidad**

Para conducir y operar una organización en forma exitosa se requiere que ésta se dirija y controle en forma sistemática y transparente. Se puede lograr este objetivo implementando y manteniendo un sistema de gestión de calidad diseñado para mejorar continuamente su desempeño considerando especialmente las necesidades de todas las partes interesadas.

Un Sistema de Gestión de Calidad (SGC) abarca todos los elementos de una organización e incluye los elementos que corresponden a cada miembro del personal para comprometerlo en la obtención y mantenimiento de la calidad en su tarea diaria.

Existen diferentes normas que establecen modelos de SGC. Todas definen la necesidad de establecer y mantener:

- Procesos documentados
- Registrar resultados de actividades

- El uso del medio escrito como soporte de la información de los resultados de los procesos.

En general todos los sistemas de calidad tienen de base un denominador común: producir bienes y servicios óptimos. Sin embargo esto solo es posible si el sistema de gestión está enfocado en procesos. Esto significa aplicar las herramientas de calidad a nivel de cada proceso de la organización.

Existen diferentes Sistemas de Gestión de la Calidad, unos de carácter obligatorio, como la norma BPM, exigidas por las autoridades regulatorias del país; y otras optativas, como la norma ISO 9000, las cuales son normas internacionales aplicables a cualquier tipo de organización.

La norma ISO 9000 define un Sistema de Gestión de la Calidad como un “Conjunto de actividades relacionadas entre sí ordenadamente que permite establecer la metodología, responsabilidades y recursos necesarios para lograr objetivos planificados siguiendo la política de calidad de la organización”.

Las normas BPM definen un Sistema de Gestión de Calidad o Garantía de Calidad como:

“Un concepto muy amplio que abarca todos los aspectos que individual o colectivamente influyen en la calidad del producto. Es el conjunto de medidas adoptadas con el fin de asegurar que los productos farmacéuticos sean de la calidad necesaria para el uso al que están destinados. Por tanto, la garantía de la calidad incorpora las PAF (BPM) y otros factores, incluyendo aquéllos que

van más allá del alcance de esta guía, tales como el diseño y la elaboración del producto". Informe 32- Anexo 1.

### **Norma de Buenas Prácticas de Manufactura**

En 1967, a petición de la primera Asamblea Mundial de la Salud (Resolución WHA20.34), se preparó el primer borrador del texto de las prácticas adecuadas de fabricación (PAF) o Buenas Prácticas de Manufactura (BPM), por un grupo de consultores. Posteriormente fue sometido a la 21- Asamblea bajo el título de "proyecto de requisitos para la práctica adecuada de fabricación y control de la calidad de medicamentos y especialidades farmacéuticas", y fue aceptado.

En 1968, el texto revisado fue estudiado por el Comité de Expertos de la OMS en Especificaciones Farmacéuticas y publicado como un anexo del Informe 22, cuyo texto fue reproducido (con algunas modificaciones) en 1971, en el suplemento de la segunda edición de la farmacopea internacional.

Este texto de las PAF fue aceptado en 1969 como parte integral del esquema OMS de Certificación de la Calidad de los Productos Farmacéuticos Objeto de Comercio Internacional en la resolución WHA22.50.

En 1975, las versiones revisadas del Esquema de Certificación y del texto de PAF fueron adoptadas mediante la resolución WHA28.65. A partir de ese año, el Esquema de Certificación se ha ampliado para incluir la certificación de:

- productos veterinarios administrados a animales que producen alimentos;

- materias primas para uso en formas farmacéuticas, cuando están sujetos al control de las leyes en el País Miembro exportador y en el País Miembro importador; e
- información sobre inocuidad y eficacia (resolución WHA41.18, 1988).

Sin embargo, el texto de las PAF no había sido revisado desde 1975. A partir de entonces se produjeron importantes novedades en materia de las PAF y se prepararon varios documentos nacionales e internacionales, entre éstos, los siguientes:

- \_ Guide to good pharmaceutical manufacturing practice 1983. Londres, Her Majesty's Stationery Office, 1983 ("Guía Naranja"). [Reemplazado por la guía CEE 1992.]
- \_ Bonnes pratiques de fabrication et de production pharmaceutique. Paris, Ministère des Affaires Sociales et de la Solidarité Nationale, Secrétariat d'Etat chargé de la Santé, Direction de la Pharmacie et du Médicament, 1985. [Reemplazado por la guía CEE 1992.]
- \_ ASEAN good manufacturing practices guidelines, 2<sup>a</sup> ed., Asociación de Naciones del Sureste Asiático, 1988.
- \_ Good manufacturing practice for medicinal products in the European Community. Comisión de las Comunidades Europeas, 1992.
- \_ Guide to good manufacturing practice for pharmaceutical products. Convención para el Mutuo Reconocimiento de la Inspección con Respecto a la Fabricación de Productos Farmacéuticos (PIC), 1992.

Posteriormente aparecieron diferentes tipos de pautas, tales como textos de las

PAF aplicables a la manufactura de sustancias químicas farmacéuticas a granel, a diferencia de la fabricación de formulaciones de formas farmacéuticas (pautas de la Convención de Inspección Farmacéutica, 1987; documentos nacionales diversos). Otro evento importante en la industria en general fue la publicación de las pautas de la International Organization for Standardization (ISO), específicamente las normas ISO 9000 y 9004 para la calidad de los sistemas (1987, revisadas en 1990). Debido a estos acontecimientos, y a los planes de ampliar y revisar el Sistema de Certificación, se hace necesaria una revisión del texto de las PAF de la OMS.

Las normas PAF de 1992, son las que actualmente están vigentes en Venezuela. Fueron adoptadas por el Ministerio del Poder Popular Para la Salud (MPPS) mediante la Gaceta Oficial 38.009, 2004; y se denominan Normas de Buenas Prácticas de Manufactura Para la Industria Farmacéutica. La guía puede aplicarse a la producción en gran escala de medicamentos en su forma farmacéutica acabada, incluyendo los procesos en gran escala empleados en los hospitales, y la preparación de materiales para ensayos clínicos.

La norma de Buenas Prácticas de Manufactura Informe 32, establece que:

“El fabricante debe asumir la responsabilidad de la calidad de los productos farmacéuticos para asegurar que sean apropiados para el uso previsto, que reúnan los requisitos necesarios para autorizar su comercialización, y que no sean riesgosos para el paciente, debido a su inocuidad, calidad o eficacia inadecuadas”. Establece además, que las principales autoridades administrativas son responsables del cumplimiento de este objetivo de calidad,

con la participación activa y el compromiso de numerosos departamentos a todos los niveles dentro de la compañía, de los proveedores y de los distribuidores”.

Bajo esta premisa, para la industria farmacéutica “Calidad” significa cumplir las especificaciones aprobadas por las autoridades regulatorias. Sin embargo, un medicamento puede cumplir sus especificaciones físico-químicas y microbiológicas, pero puede no ser eficaz ni inocuo. Puede ser simplemente un producto químico que ocasione graves accidentes de salud y hasta la muerte. Entonces, lograr un medicamento de calidad es posible cuando se controlan consistentemente los procesos de toda la organización y la alta dirección otorga los recursos humanos y financieros suficientes y a tiempo para corregir desviaciones y optimizar los procesos.

Los requisitos BPM del Informe 32- OMS están orientados a los procesos de producción, almacenamiento, control de calidad, distribución y los destinados a la vigilancia del producto en el mercado (quejas, devoluciones y recolecciones). No así en otros procesos de apoyo que inciden indirectamente en la calidad de los productos y servicios, entre éstos: planificación, compras, recursos humanos, finanzas. Esto conlleva a la necesidad de complementar las BPM con la norma ISO 9001 que tiene un enfoque basado en procesos y permite gestionar todos los procesos de la organización.

La manera idónea de lograr la calidad integral de los medicamentos es a través de la implantación de un Sistema de Gestión de la Calidad robusto y eficiente donde el responsable sea la alta Dirección de la Organización para que erogue

los recursos en el momento adecuado y se mantenga al tanto de las oportunidades de mejora para implementar las medidas correctivas e ir hacia la mejora continua.

En la siguiente Tabla se muestran los avances de las BPM y los sucesos relacionados.

**Tabla I.- Evolución de las Buenas Prácticas de Manufactura.**

SUCESO	ACCION
<p><b>En 1906 un suero antitetánico causó difteria</b> Pésimas condiciones de higiene en el envasado de carnes. (Libro "La Jungla" de U. Sinclair).</p>	<p>1906: Creación de la Federal Food &amp; Drugs Act (FDA).</p>
<p><b>En 1938</b> algunos pacientes sufrieron intoxicaciones mortales por ingerir elixir de sulfanilamida contaminado con <b>dietilenglicol</b></p>	<p>1938: Se crea la Food, Drug &amp; Cosmetic Act</p>
<p><b>1960 La Talidomida</b>, medicamento usado para prevenir náuseas en embarazadas, <b>causó malformaciones fetales muy graves</b></p>	<p>1962 -La FDA propone las BPM. 1963 - Publicación de las BPM. 1967- La OMS <sup>(1)</sup> propone las BPM. 1969 - Aplicación de BPM. en OMS 1970 - Creación de la PIC<sup>(2)</sup>(Europa)</p>
<p>Contaminantes en parentelas en EEUU (1968), UK (1972) y Francia (1977).</p>	<p><b>En 1971 la OMS recomienda la obligatoriedad de las BPM para los laboratorios de los países miembros.</b></p>
	<p>1989 - Publicación del Codex Alimentarius que incluye normas de BPM.</p>
<p><sup>1)</sup> OMS: Organización Mundial de la Salud. <sup>(2)</sup> PIC : Pharmaceutical Inspection Convention</p>	

## **Requisitos de la Norma BPM Informe 32**

La norma de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) consta de tres partes:

La Primera Parte: "Administración de la calidad en la industria farmacéutica:

Filosofía y elementos esenciales", define los conceptos generales de la garantía de la calidad y de los principales componentes o subsistemas de las BPM o PAF, que son responsabilidades conjuntas de la alta dirección y de la administración de la producción y el control de la calidad. Entre éstos se incluyen: Garantía de la calidad, higiene, validación, quejas, retiro productos, producción y análisis por contrato, auto inspección y auditorías; personal, instalaciones, equipos, materiales y documentación.

La Segunda Parte, "Prácticas adecuadas en la producción y el control de la calidad", provee asesoramiento con respecto a las acciones que debe efectuar separadamente el personal de producción y el de control de la calidad, para la puesta en práctica de los principios generales de garantía de la calidad.

La Tercera Parte contiene dos pautas complementarias (Productos farmacéuticos estériles y Prácticas adecuadas de fabricación para ingredientes farmacéuticos activos (sustancias farmacéuticas a granel); sin embargo, no es una sección taxativa, pues se preveía la inclusión de otras pautas en el futuro, como por ejemplo las referentes a productos biológicos, materiales para ensayos clínicos, y comprobación.

De acuerdo a la norma, el sistema de garantía de calidad para la fabricación de medicamentos debe asegurar:

- a) que los productos estén diseñados y elaborados de tal forma que se tengan en cuenta los requisitos de las PAF y otros códigos relacionados, tales como la práctica adecuada de laboratorio (PAL)<sup>1</sup> y la práctica clínica adecuada (PCL).
- b) que las operaciones de producción y control estén claramente especificadas por escrito y que se adopten los requisitos de las PAF;
- c) que las responsabilidades gerenciales estén claramente especificadas en las descripciones de trabajo;
- d) que se tomen las medidas necesarias para la fabricación, provisión, y uso de materia prima y de envasado adecuados;
- e) que se efectúen todos los controles necesarios de las materias primas, productos intermedios, y productos a granel, y otros controles, calibraciones, y comprobaciones durante el procesado;
- f) que el producto acabado sea procesado y controlado correctamente y de acuerdo con los procedimientos definidos;
- g) que los productos farmacéuticos no sean vendidos ni suministrados antes de que las personas autorizadas (véase también la sección 10.6) hayan certificado que cada lote de producción ha sido fabricado y controlado en concordancia con los requisitos establecidos por las

autoridades encargadas de la comercialización y con otras reglamentaciones pertinentes a la producción, control y expedición de los productos farmacéuticos;

- h) que se hayan tomado medidas adecuadas para asegurar, en todo lo posible, que los productos farmacéuticos sean almacenados por el fabricante, distribuidos, y subsiguientemente manejados de tal forma que la calidad se mantenga durante todo el período de actividad de dichos productos.
- i) que se establezca un procedimiento de auto-inspección y/o de auditoría de la calidad, mediante el cual se evalúe regularmente la eficacia y aplicabilidad del sistema de garantía de la calidad.

### **Estructura de la Norma BPM, Informe 32, OMS**

1. Introducción,
2. Consideraciones generales
3. Glosario

### **Primera Parte. Administración de la calidad en la industria farmacéutica:**

**filosofía y elementos esenciales:** Se refiere a la función administrativa de la calidad, con los siguientes elementos básicos: Infraestructura apropiada o "sistema de calidad" que abarque la estructura, procedimientos, procesos, y recursos; y las acciones sistemáticas necesarias para asegurar la confianza suficiente en que el producto (o servicio) satisface determinadas condiciones de calidad. El conjunto de esas acciones se denomina "garantía de la calidad".

**Esta primera parte abarca los capítulos siguientes:**

1. Garantía de la calidad
2. Prácticas adecuadas de fabricación de productos farmacéuticos (PAF)
3. Control de la calidad
4. Saneamiento e higiene
5. Validación ; Validación del proceso,.
6. Quejas
7. Retiro de un producto
8. Producción y análisis por contrato
9. Auto inspección y auditoría de calidad, seguimiento, auditoría de proveedores;
10. Personal: personal clave, capacitación., higiene personal;
11. Instalaciones;
12. Equipos;
13. Materiales: materias primas, materiales de envasado, productos intermedios y a granel, productos terminados, materiales rechazados y recuperados, productos retirados, Productos devueltos. Reactivos y medios de cultivo. Patrones de referencia. Materiales desechados. Miscelánea
14. Documentación: Generalidades y documentos exigidos

**Segunda Parte. Prácticas adecuadas de producción y de control de la calidad. Abarca dos capítulos:**

15. **Prácticas adecuadas de producción:** Prevención de la contaminación cruzada y bacteriana. Contaminación de la producción. Operaciones de procesado: productos intermedios y a granel. Operaciones de envasado
16. **Prácticas adecuadas de control de la calidad:** Control de materias primas, y de productos intermedios, a granel, y acabados. Requisitos exigidos en las pruebas. Examen de los registros de producción. Estudios de estabilidad

**Tercera Parte. Pautas complementarias y de apoyo- Abarca dos capítulos:**

17. **Productos farmacéuticos estériles:** Fabricación de preparaciones estériles. Personal. Instalaciones. Equipos. Saneamiento. Procesado. Esterilización. Filtración de productos farmacéuticos que no pueden esterilizarse en su recipiente final. Acabado de productos estériles. Control de la calidad
18. **Prácticas adecuadas de fabricación para ingredientes farmacéuticos activos (sustancias farmacéuticas a granel):** Personal. Instalaciones. Equipos. Saneamiento. Documentación. Retención de registros y muestras de referencia. Producción.

De todo este contenido, el capítulo 18 no aplica para el Trabajo Especial de Grado que hemos realizado, por estar específicamente relacionado con la fabricación de materias primas farmacéuticas.

Es evidente que la norma BPM -PAF es una guía para producir medicamentos y para vigilar su comportamiento en el mercado. En consecuencia, su combinación con los elementos ISO 9001 es fundamental cuando queremos mantener bajo control toda la organización (procesos administrativos, financieros, recursos humanos, compras, planificación; entre otros).

### **Normas de Buenas Prácticas de Almacenamiento y Distribución**

Los medicamentos deben ser controlados en todas las etapas de la producción, del almacenamiento y durante su distribución, hasta su entrega en farmacias, hospitales y otros establecimientos de salud.

Controlar la calidad de los medicamentos después de su producción debe estar enmarcado en regulaciones que definan procedimientos de buenas prácticas de adquisición, distribución, recepción, almacenamiento y dispensación entre otras, como la parte de las responsabilidades que tienen los profesionales farmacéuticos de brindar a los pacientes una adecuada calidad de los medicamentos que consumen.

Las normas de Buenas Prácticas de Almacenamiento, constituyen un elemento fundamental dentro de toda institución destinada al manejo de productos farmacéuticos, que engloban políticas, actividades y recursos para mantener y

garantizar la calidad, la conservación y el cuidado de los medicamentos reconocidos por Ley, para una buena prestación de servicios de salud.

Las normas de Buenas Prácticas de Distribución de Productos Farmacéuticos hacen parte estructural del concepto de Aseguramiento de Calidad para la Industria Farmacéutica, la cual lleva a la práctica la filosofía de calidad, que para el caso de este sector industrial, responde al deber social y al compromiso de entregar a la comunidad productos que satisfagan los requerimientos de identidad, concentración, seguridad y eficacia, para lo cual establece los lineamientos que permiten garantizar la confianza de recibir productos cuya calidad esté conforme con las exigencias regulatorias, y mucho más que eso, resguardar su salud y por ende su vida. Adicionalmente, establece lineamientos fundamentales para el almacenamiento adecuado del medicamento con el fin de conservar sus atributos de calidad, seguridad y eficacia con los cuales fue diseñado.

El almacén de medicamentos debe ser un lugar o ambiente apropiado que cuente con una adecuada distribución física y las condiciones ambientales y de seguridad necesarias para los diferentes tipos de productos y sus formas farmacéuticas sujetos a controles de inventario, operaciones de ingreso, salida, reubicación, modificaciones de presentación, realizar registros, custodiar y conservar transitoria o temporalmente los producto, etc.

Contar con un almacén de productos farmacéuticos que cumpla con las normas de Buenas Prácticas de Distribución, permite alcanzar los beneficios siguientes: las siguientes ventajas siguientes:

Mantener los productos farmacéuticos a salvo de incendios, robos y deterioros. Establecer y mantener un resguardo físico adecuado de los productos allí ubicados tomando las precauciones necesarias que los proteja de algún daño por uso inapropiado, mala manipulación, defectos en el procedimiento de rotación de inventarios, robos, etc. Cumplir las condiciones de conservación requeridas para cada tipo de medicamento (temperatura, humedad, aireación, limpieza) y garantizar que se cumplen en todos y cada uno de los lugares donde sea almacenado.

Registrar la ubicación de cada producto en el almacén facilitando a las personas autorizadas el rápido acceso a los productos almacenados para facilitar la preparación del despacho. Cumplir el FEFO. Realizar la distribución física adecuada de los productos, cumpliendo las condiciones de embalaje y cadena de frío.

Las Normas de Buenas Practicas de Distribución aplica a cualquier tipo de Almacén de Medicamentos, bien sea que forme parte de la empresa de producción de medicamentos, como que pertenezca a una empresa dedicada exclusivamente al almacenamiento de medicamentos; u otro tipo de empresa dedicada al expendio de medicamentos.

Las Buenas Prácticas de Distribución están concebidas para realizar cada operación de manera organizada y sistemática, controlando permanentemente los riesgos de contaminaciones cruzadas, confusiones y/o mezclas durante todas las fases involucradas en los procesos de Compra, Recepción, Almacenamiento, transporte y distribución de los medicamentos.

El Aseguramiento de la Calidad es definido en las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura para Productos Farmacéuticos (BPM) de la Organización Mundial de la Salud, como un elemento clave para garantizar la calidad, seguridad y eficacia de los medicamentos. El cumplimiento de las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) permite asegurar que los productos liberados para la distribución son de la calidad apropiada al uso indicado; sin embargo, su calidad puede ser vulnerada si no se cumplen estrictamente las Normas de Buenas Prácticas de Distribución (BPD).

El Aseguramiento de la Calidad es la consolidación del sistema de calidad en su dimensión interna y externa, así como la forma de evidenciar con hechos el cumplimiento por parte de todos los integrantes de la empresa en el logro de las políticas y objetivos de calidad.

El propósito básico del Aseguramiento de la Calidad es prevenir la ocurrencia de errores, lo cual conlleva a mejorar la producción, la productividad y la competitividad en las empresas. El Aseguramiento de la Calidad es un proceso que involucra a todas las funciones de la organización, que busca certificar, asegurar y garantizar que los productos o servicios fabricados u ofrecidos por una empresa sean de óptima calidad

Para lograr el Aseguramiento de la Calidad es prioritario aplicar herramientas estadísticas, planes de muestreo, sistemas de inspección, medición y ensayos adecuados a los procesos y a los puntos de inspección; y auditar los procesos, para lograr la Certificación BPD, correspondiéndole a la dirección de la empresa

ejercer un seguimiento permanente al sistema y a los resultados obtenidos, para el mantenimiento de la mejora continua.

Las Normas de Buenas Prácticas de Distribución de Productos Farmacéuticos fueron diseñadas para establecer un Sistema de Aseguramiento de la Calidad en los almacenes de farmacias, hospitales y Casas de Representación, para garantizar la calidad de los medicamentos, ya sean nacionales o importados, en sus etapas de distribución, tenencia, dispensación y expendio en todo el territorio nacional, según los lineamientos establecidos en la resolución N° 253 de fecha 18 de junio de 2004, del Ministerio del Poder Popular de la Salud (MPPS).

Para garantizar la Calidad, las normas BPD indican que: “todo establecimiento dedicado al almacenamiento y distribución de los medicamentos, debe asegurar que las operaciones de recepción, almacenamiento, despacho y distribución, se realicen de acuerdo a los principios establecidos en las Normas”. En consecuencia, debe establecerse, vigilarse y evaluarse periódicamente el sistema, mediante la realización de auto-inspecciones, lo cual permitirá determinar las desviaciones y hacer las correcciones pertinentes.

Para implementar un programa de Buenas Prácticas de Distribución de Productos Farmacéuticos, es necesario que existan procedimientos escritos para las operaciones que, directa o indirectamente, puedan afectar la calidad de los productos a la actividad de distribución.

Los principios de las Normas de Buenas Prácticas de Distribución (BPD) deben ser cumplidos por todas las empresas y establecimientos instalados en el país

que distribuyan medicamentos al mayor, sean estos fabricados en Venezuela o importados, con el fin de garantizar el nivel de calidad de los medicamentos (conformidad de sus especificaciones) durante su almacenamiento, transporte y distribución. Adicionalmente, constituye un instrumento de guía del Ente Regulador (MPPS) para auditar a los Distribuidores de medicamentos con el fin de verificar el nivel de cumplimiento de las Normas; y para la Empresa en sí, para autoevaluar el cumplimiento de la Norma.

Las Normas de Buenas Prácticas de Distribución constan de XII Capítulos.

Los XII Capítulos que conforman Las Normas de Buenas Prácticas de Distribución son los siguientes:

I- Del Aseguramiento de la Calidad

II- Del Personal

III-De Las Instalaciones

IV-De la Documentación

V- Procesos de Compra, Recepción, Almacenamiento, Preparación del Pedido, Despacho y Distribución de Medicamentos

VI- Del Rastreo del Lote

VII-De las Quejas y Reclamos

VIII-De Las Devoluciones

IX- Recolecciones

X- Disposición de Desechos

XI- De la Auto-Inspección y Auditorias de Calidad

XII- Disposiciones Transitorias.

## **Normas ISO 9000**

Las normas ISO 9000 son normas internacionales sobre calidad y gestión continúa de la calidad establecida por la Organización Internacional de Normalización (ISO). Esta familia de normas apareció en 1987, tomando como base la norma británica BS 5750 de 1987, y experimentó su mayor crecimiento a partir de la versión de 1994.

Las normas de la serie 9000 se pueden aplicar en cualquier tipo de organización o actividad orientada a la producción de bienes o servicios. Sin embargo, de todo este conjunto de normas, la ISO 9001 es la única que contiene el modelo de gestión y que es capaz de certificarse. Es además una norma que proporciona orientación para ayudar a conseguir el éxito sostenido para cualquier organización en un entorno complejo, exigente y en constante cambio.

Las normas ISO identifican 8 principios para la gestión de la calidad en pos de una mejora continua del desempeño que constituyen la base de estas normas:

1. **Enfoque al cliente:** Las organizaciones dependen de sus clientes y por lo tanto deberían comprender las necesidades actuales y futuras de los clientes, satisfacer los requisitos de los clientes y esforzarse en exceder las expectativas de los clientes.
2. **Liderazgo:** Los líderes establecen la unidad de propósito y la orientación de la organización. Ellos deberían crear y mantener un ambiente interno, en el cual el personal pueda llegar a involucrarse totalmente en el logro de los objetivos de la organización.

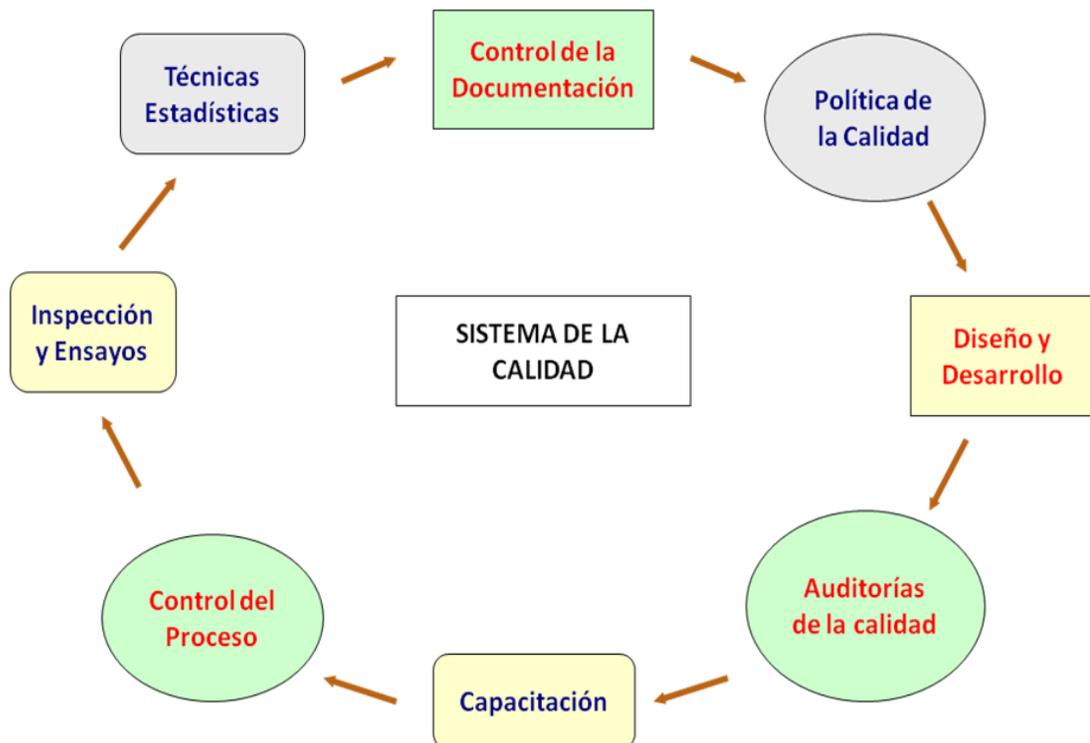
3. **Participación del personal:** El personal, a todos los niveles, es la esencia de una organización, y su total compromiso posibilita que sus habilidades sean usadas para el beneficio de la organización.
4. **Enfoque basado en procesos:** Un resultado deseado se alcanza más eficientemente cuando las actividades y los recursos relacionados se gestionan como un proceso.
5. **Enfoque de sistema para la gestión:** Identificar, entender y gestionar los procesos interrelacionados como un sistema, contribuye a la eficacia y eficiencia de una organización en el logro de sus objetivos.
6. **Mejora continua:** La mejora continua del desempeño global de la organización debería ser un objetivo permanente de ésta.
7. **Enfoque basado en hechos para la toma de decisión:** Las decisiones eficaces se basan en el análisis de los datos y la información.
8. **Relaciones mutuamente beneficiosas con el proveedor:** Una organización y sus proveedores son interdependientes, y una relación mutuamente beneficiosa aumenta la capacidad de ambos para crear valor.

Estas normas se pueden aplicar en cualquier tipo de organización o actividad orientada a la producción de bienes o servicios. Sin embargo, de todo este conjunto de normas, la ISO 9001 es la única que contiene el modelo de gestión de la Calidad y que es capaz de certificarse. Es además una norma que proporciona orientación para ayudar a conseguir el éxito sostenido para cualquier organización en un entorno complejo, exigente y en constante cambio.

Su implantación, aunque supone un trabajo arduo, ofrece numerosas ventajas para las empresas, entre las que se encuentran:

- Estandarizar las actividades del personal que trabaja dentro de la organización por medio de la documentación;
- Incrementar la satisfacción del cliente;
- Medir y monitorizar el desempeño de los procesos;
- Disminuir los re-procesos;
- Incrementar la eficacia y/o eficiencia de la organización en el logro de sus objetivos;
- Mejorar continuamente los procesos, productos, la eficacia, entre otros.

En general estas normas ISO abarcan los aspectos siguientes:



Incorporan además los elementos necesarios para la mejora continua

- Responsabilidad de la dirección
- Calidad del Diseño
- Control de la Documentación
- Control de las compras
- Identificación y trazabilidad del producto
- Control de los procesos
- Inspección y ensayos
- Control de equipos de inspección, medición y ensayos

Por su parte, la norma ISO 9001:2008 establece los requisitos para un sistema de gestión de la calidad, cuando una organización requiere:

- a) Demostrar su capacidad para proporcionar regularmente productos que satisfagan los requisitos del cliente y los legales y reglamentarios aplicables, y
- b) Aumentar la satisfacción del cliente a través de la aplicación eficaz del sistema, incluidos los procesos para la mejora continua y el aseguramiento de la conformidad con los requisitos del cliente y los legales y reglamentarios aplicables.

Todos los requisitos de esta norma son genéricos y se pretende que sean aplicables a todas las organizaciones sin importar su tipo, tamaño y producto suministrado. Cuando uno o varios requisitos de esta norma internacional no se puedan aplicar debido a la naturaleza de la organización y de su producto,

pueden considerarse para su exclusión. Cuando se realicen exclusiones, no se podrá alegar conformidad con esta norma, a menos que dichas exclusiones queden restringidas a los requisitos expresados en el capítulo 7 y que tales exclusiones no afecten la capacidad o responsabilidad de la organización para proporcionar productos que cumplan con los requisitos del cliente y los legales y reglamentarios aplicables.

ISO 9001:2008 mantiene de forma general la filosofía del enfoque basado en proceso y los ocho principios de gestión de la calidad a la vez que sigue siendo genérica y aplicable a cualquier organización independientemente de su actividad, tamaño o su carácter público o privado. Tiene muchas semejanzas con el famoso “PDCA”: acrónimo de Plan, Do, Check, Act (Planificar, Hacer, Verificar, Actuar). Está estructurada en cuatro grandes bloques, completamente lógicos, y esto significa que con el modelo de sistema de gestión de calidad basado en ISO se puede desarrollar en su seno cualquier actividad, sin importar el producto o servicio.

Los cambios ocurridos en esta versión abarcan prácticamente la totalidad de los apartados de la norma, pero no suponen un impacto para los sistemas de gestión

de la calidad de las organizaciones basadas en la ISO 9001:2008, ya que fundamentalmente están enfocados a mejorar o enfatizar aspectos como:

- el cumplimiento legal y reglamentario.
- la alineación con los elementos comunes de los sistemas ISO 14001

- mayor coherencia con otras normas de la familia ISO 9000
- mejora del control de los procesos subcontratados.
- aumentar la comprensión en la interpretación y entendimiento de los elementos de la norma para facilitar su uso.
- eliminación de ambigüedades en el tratamiento de algunas actividades

### **Estructura ISO 9001:2008**

- **Cap.1 al 3:** Guías y descripciones generales.
- **Cap.4 Sistema de Gestión de la Calidad:** contiene los requisitos generales y los requisitos para gestionar la documentación.
- **Cap.5 Responsabilidad de la Dirección:** contiene los requisitos que debe cumplir la dirección de la organización, tales como definir la política, asegurar que las responsabilidades y autoridades están definidas, aprobar objetivos, el compromiso de la dirección con la calidad, etc.
- **Cap.6 Gestión de los Recursos:** la Norma distingue 3 tipos de recursos sobre los cuales se debe actuar: RRHH, infraestructura, y ambiente de trabajo. Aquí se contienen los requisitos exigidos en su gestión.
- **Cap.7 Realización del Producto/Servicio:** aquí están contenidos los requisitos puramente de lo que se produce o brinda como servicio (la norma incluye servicio cuando denomina "producto"), desde la atención al cliente, hasta la entrega del producto o el servicio.

- **Cap.8 Medición, análisis y mejora:** aquí se sitúan los requisitos para los procesos que recopilan información, la analizan, y que actúan en consecuencia. El objetivo es mejorar continuamente la capacidad de la organización para suministrar productos y/o servicios que cumplan con los requisitos. El objetivo declarado en la Norma, es que la organización busque sin descanso la satisfacción del cliente a través del cumplimiento de los requisitos.

De todo lo descrito anteriormente, podemos inferir que en líneas generales todos los sistemas de calidad orientan sus objetivos hacia el logro de procesos robustos, reducción de errores, cumplir requisitos legales y normas vigentes; y asegurar la trazabilidad, con el fin de satisfacer las necesidades del cliente. Una herramienta fundamental para el logro de estos objetivos es el establecimiento de un Sistema de Documentación eficaz.

## **Documentación del Sistema de Calidad**

En una determinada organización, las razones principales para documentar podrían ser:

- Cumplir con las especificaciones de un producto o servicio. La documentación demuestra que las cosas se hicieron de la forma estipulada.
- Asegurar la reproducibilidad de los resultados.
- Facilitar el entrenamiento, ya que una persona que deba aprender cómo se hace una determinada tarea cuenta con una guía estándar para instruirse.
- Cumplir con los requisitos legales exigidos por la autoridad sanitaria y con las normas vigentes.
- Rastrear o reconstruir el proceso.
- Asegurar la “trazabilidad de los procesos y productos a través de los registros históricos. En caso de presentarse un problema, la documentación permite rehacer el proceso, identificar dónde ocurrió el error y corregirlo
- Cumplir con las especificaciones de un producto o servicio.

## **Implementación del Sistema de Documentación**

Para establecer un sistema de documentación, se requiere aplicar una metodología que garantice cumplir todas las regulaciones y normativas de calidad que apliquen a la organización. El responsable del sistema de calidad debe garantizar la implementación del sistema, aplicando la siguiente metodología:

- 1.-Determinar las necesidades
- 2.-Diagnosticar la situación documental

3.-Diseñar el sistema documental

4.-Elaborar los documentos

5.-Implantar el sistema

6.-Mantener el sistema

### **Preparación de la Documentación**

En el siguiente cuadro se resumen las etapas de preparación de un documento:

Etapas	Actividades
Obtención de la información primaria	Seleccionar la persona idónea o con experiencia en el proceso o procedimiento objeto de preparación del documento
Redacción	Realizar la compilación, identificación y análisis de la información, hasta lograr un consenso para unificar los criterios de aplicación.
Revisión	Se revisa y se corrige el documento en un nuevo consenso operativo.
Aprobación	Una vez que el documento ha sido corregido, requiere la aprobación respectiva, en los términos descritos en el Manual de Calidad.
Edición	Adecuación del documento al formato y marco jurídico legal de la institución, por parte de una persona competente
Emisión	En esta etapa, el documento aprobado por los niveles correspondientes se reproduce a fin de contar con copias suficientes para su debida utilización.
Divulgación	El documento se difunde para su aplicación
Entrenamiento	Una vez que el documento ha sido divulgado, se capacita al personal.
Aplicación	Esta es una de las etapas más críticas, pues en general se cree que con sólo disponer de los documentos es para que sean aplicados. Existe una gran diferencia entre lo que está escrito y lo que en realidad se hace. Esta es una etapa crítica, pues en general hay gran diferencia entre lo que está escrito y lo que se hace.
Evaluación	Se hace mediante auditorías internas y externas para comprobar que las actividades se desarrollan de la manera estipulada.
Puesta en vigencia	Una vez se comprueba que el personal entendió el documento se establece la fecha de vigencia.

## **Niveles de la Documentación del Sistema de Calidad**

Además de la documentación externa oficial (normas, estándares, decretos y regulaciones) o no oficial (manuales de aparatos, catálogos, hojas de seguridad de reactivos, certificados de lotes, etc.), en un sistema de gestión de la calidad existen cuatro niveles de la documentación elaborada por la institución:

Nivel 1: El Manual de Calidad (qué debe hacerse).

Nivel 2: Los procesos (cómo sucede).

Nivel 3: Los procedimientos operativos estándares (cómo debe hacerse).

Nivel 4: Los formularios y registros (cómo se hizo).

## **Responsables de la Documentación**

El sistema de Documentación debe ser diseñado, implementado, controlado y actualizado por el departamento de Gestión de Calidad o Garantía de Calidad.

Si bien todas las personas que integran la organización son responsables de la Documentación, hay distintas responsabilidades para cada nivel:

Nivel 1. La dirección de la empresa es responsable de la política de calidad y de los objetivos definidos en el Manual de Calidad

Niveles 2 y 3. Los jefes y supervisores son responsables de la documentación de los procesos y procedimientos tanto técnicos como administrativos.

Nivel 4. Las personas que ejecutan una determinada actividad son responsables de los registros específicos correspondientes.

## **Descripción de los Documentos del Sistema de Calidad**

### **1.- Nivel 1. Manual de Calidad**

El Manual de Calidad suministra una guía sobre políticas y procesos de un sistema de calidad que permiten asegurar la eficacia y eficiencia de los productos y servicios de la organización. El manual de calidad debe presentar la política de la calidad, describir el sistema de calidad y mostrar la estructura de la documentación usada en él, incluyendo o haciendo referencia a los documentos que lo soportan, incluso los técnicos. En el manual se deben definir la estructura de la organización (organigrama) con los roles y responsabilidades de la dirección técnica y del responsable de la calidad, incluyendo sus responsabilidades con el cumplimiento de esta norma. El manual de calidad debe estar actualizado, bajo la autoridad y responsabilidad de una persona designada como responsable de la calidad por la dirección de la organización. El personal debe ser instruido en el uso y aplicación del manual de calidad, y los documentos que debe aplicar.

### **2.- Nivel 2: Procesos**

El proceso es una secuencia de actividades que transforman los insumos (entrada) en un resultado que generen una información (salida), generalmente creando un valor agregado para el usuario. Es frecuente que el resultado de un proceso se convierta en el insumo del siguiente proceso. En realidad todas las actividades o trabajos en una organización se llevan a cabo mediante un proceso que se generó de manera natural o que fue diseñado con este

propósito. Se denomina “enfoque basado en procesos” a la identificación, aplicación, interacción y gestión de los procesos dentro de una organización. Hay dos clases de procesos: los centrales y los de apoyo. Los procesos centrales son aquellos que están relacionados con la generación de productos y servicios para el cliente externo, y básicamente corresponden a la razón de ser de la organización.

Los procesos de apoyo, en cambio, son vitales pero no agregan valor de forma directa al producto o servicio, y generalmente están destinados a los clientes internos (compras, mantenimiento, limpieza de instalaciones, capacitación del personal), etc. Normalmente, en la documentación que define los procesos se describen actividades interrelacionadas necesarias para implementar el sistema de calidad, las cuales abarcan varias etapas desarrolladas por personal de diferentes áreas en diferentes momentos.

La documentación para definir los procesos se prepara en tres etapas

- Identificación del proceso.
- Definición de los elementos del proceso.
- Elaboración del diagrama de flujo y análisis del diagrama

## **2.1.- Identificación del proceso**

En esta primera etapa es imprescindible documentar lo que se hace en realidad y no lo que se cree que se hace. Hay una brecha muy grande entre la teoría y la realidad, y sólo es posible descubrir el verdadero potencial si se toma en cuenta la importancia de esta última. Adicionalmente, dado que los procesos tienden a

variar según quién los redacta, es necesario obtener un consenso sobre la mejor forma posible de ejecutar cada actividad. En definitiva, además de investigar qué se produce y comprobar quién realmente utiliza estos productos y servicios, se debe recopilar todo tipo de información pertinente (informes, decisiones) y de manera relevante identificar los puntos críticos de control que se convertirán en ítems de verificación a través de las mediciones.

## 2.2.- Elementos de un proceso

Los procesos se describen como una secuencia de equipos, personal y procedimientos desarrollados en un medio ambiente adecuado y que permiten transformar muestras (entrada) en un resultado final o una información (salida), creando un valor agregado para el usuario.

En el siguiente flujograma se establecen los pasos a cumplir desde la inmunización de los animales donadores hasta la obtención del producto final

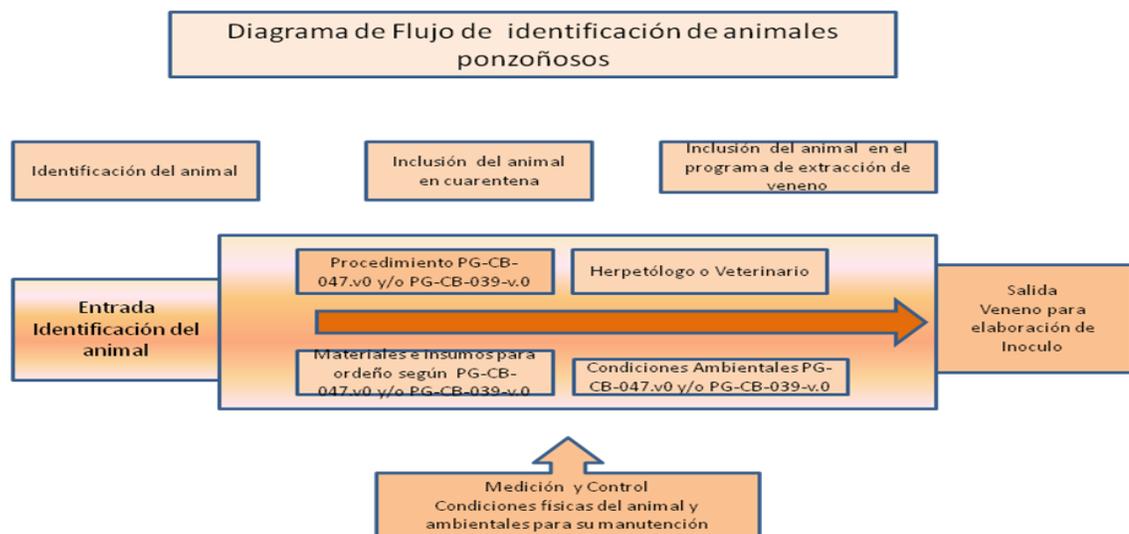


Figura 7: identificación de animales ponzoñosos

### 2.3.- Diagrama de flujo

Un proceso puede presentarse en forma de texto, cuadro o diagrama de flujo.

El diagrama de flujo es un mapa que ilustra la secuencia de las diferentes actividades a desarrollar en un proceso. El diagrama de flujo permite visualizar la secuencia de actividades que conforman el proceso, identificando las etapas críticas de las actividades y facilitando la redacción de los Procedimientos Operativos Estándar (POEs).

Una vez identificado el proceso hay que dibujar el diagrama de flujo, haciendo constar los tiempos de espera y las ineficiencias reales. Para ello se utilizan figuras convencionales como “comienzo o fin del proceso”, “etapas o actividades”, “punto de decisión”, así como flechas que indican la dirección del flujo. De acuerdo a lo que se vaya a ilustrar, los diagramas de flujo podrán ser generales o estar enfocados a un aspecto específico.

El cuadro siguiente contiene los componentes esenciales para el diseño de un diagrama de flujo.

Componentes	Actividades /preguntas
Actividades que definen el proceso	<ul style="list-style-type: none"><li>• Identificar el resultado final (producto que se da al cliente).</li><li>• Identificar los requerimientos del cliente.</li><li>• Identificar los participantes de las distintas etapas del proceso.</li><li>• Identificar al(los) responsable(s) del proceso.</li><li>• Definir los límites (primera y última actividad del proceso).</li><li>• Identificar método, personal, equipo, reactivos, condiciones ambientales e insumos.</li></ul>
Preguntas necesarias para elaborar el diagrama	<ul style="list-style-type: none"><li>¿De dónde y cómo llegan los insumos?</li><li>¿Quién toma las decisiones?</li><li>¿Qué ocurre si la decisión es sí o es no?</li><li>¿A qué controles se debe someter el producto de cada actividad?</li><li>¿Qué controles deben efectuarse al proceso?</li><li>¿Qué ocurre si los controles no son aceptables?</li><li>¿Adónde va el producto una vez que concluye el proceso?</li></ul>

El diagrama de flujo debe incluir las actividades indispensables del proceso. Si el proceso es difícil de diagramar, se debe comenzar por las actividades más grandes e importantes dentro del proceso principal, las que posteriormente pueden detallarse en nuevos diagramas. Ver Ejemplo “Sangrado de Equinos”.

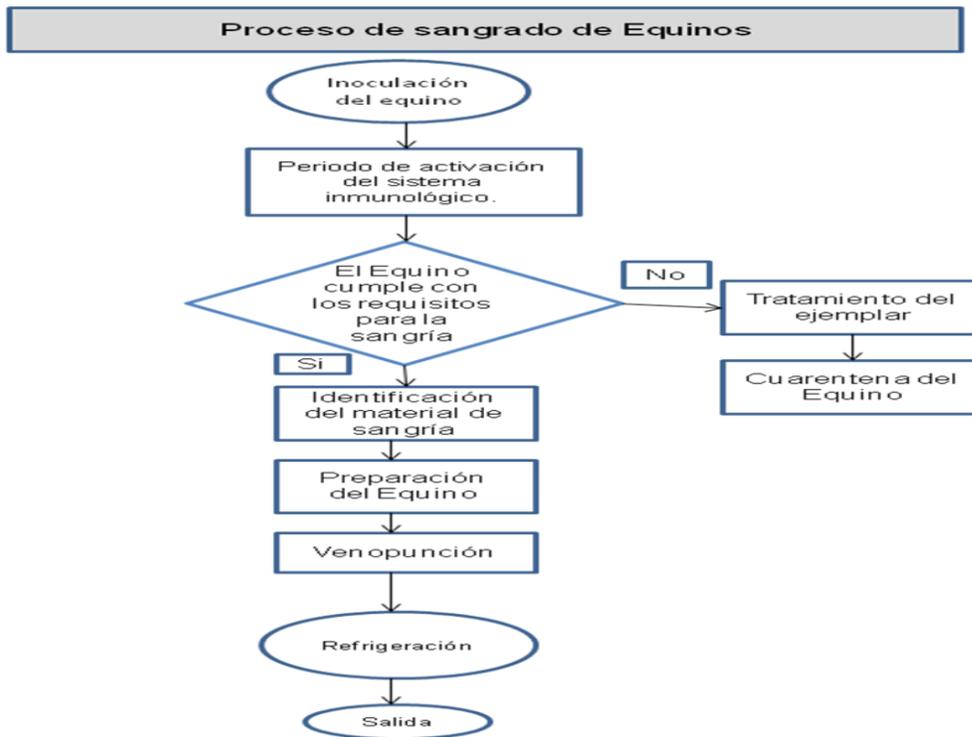


Figura 8: Sangrado de Equinos

### 3.- Nivel 3. Procedimientos Operativos Estándar (POEs)

Los Procedimientos Operativos Estándar (POEs), son documentos por sí mismos y describen tareas dentro de una misma etapa del proceso, en general ejecutadas por personas de una misma área. Al igual que una actividad no es en sí misma un documento y sí lo es el POE que la describe, un proceso

(conjunto de actividades) no es un documento en sí mismo, pero sí lo es la documentación que lo define.

Los procedimientos Operativos Estándar son documentos que proporcionan las instrucciones necesarias para la correcta ejecución de las actividades administrativas o técnicas. En general se puede decir que un procedimiento establece cómo debe hacerse en el sentido amplio: qué se debe hacer, cuándo, cómo y dónde se hará, y quién debe hacerlo.

Las Normas ISO 9000 definen un **procedimiento** como “Forma especificada para llevar a cabo una actividad o un proceso”. En otras palabras es la descripción precisa, concisa y clara del material, equipo, condiciones, actividades y requerimientos para obtener un producto o un servicio de una calidad definida.

En cualquier organización, los POEs son una serie de instrucciones que describen cómo ejecutar una tarea determinada y tienen un formato estándar definido por la institución. Es necesario que estén siempre disponibles para el personal de las áreas donde se ejecutan esos procedimientos y son vitales para llevar a cabo la implementación del sistema de gestión de la calidad.

Como paso previo a la redacción de los POEs se deben analizar los diagramas de flujo e identificar las etapas y los puntos críticos de control. Una falla en un punto crítico de control puede afectar la calidad del resultado y/o provocar un riesgo para la salud y medio ambiente.

La elaboración de un POE es en sí misma una actividad que requiere un POE específico para detallar cómo hay que hacerlo, es decir que describa los

métodos y formatos aprobados, pautas necesarias para la redacción, identificación, aprobación, aplicación, revisión, actualización y archivo. La distribución forma parte de un POE de control de documentos.

Las personas encargadas de redactar los POEs deben seleccionarse entre el personal de la organización, pues nadie conoce mejor una actividad que quien la realiza; y también, éstas deben estar familiarizadas con la estructura para la redacción.

Es importante que se defina y mantenga la estructura que se dará a los POEs, con el objeto de facilitar su lectura y comprensión, motivar al personal a que los utilicen y mejorar el desarrollo del entrenamiento.

Este Trabajo especial de grado realizará el Manual de procedimientos con el marco de la ISO 9001:2008 y los Procedimientos Estándar de Operación (POEs) exigidos en esta Norma y en la norma BPM Informe 32.

#### **4.- Nivel 4. Formularios y registros**

Los formularios y registros son documentos creados para tener una evidencia de las actividades efectuadas, de sus controles y de sus resultados. Los formularios son documentos con espacios en blanco, que una vez llenados se transforman en registros. Deben ser completados en el mismo momento en que se realiza la actividad, anotando en ellos, clara y sistemáticamente toda la información pertinente. Aunque es común que estos datos se archiven en papel, cada vez más se están utilizando archivos electrónicos de computadora. Es muy importante recalcar que en un sistema de calidad, ***lo que no ha sido registrado, no se ha hecho, no existe***. Gran parte del trabajo de las auditorías

internas y externas consiste precisamente en comprobar el funcionamiento del sistema de registro.

#### **4.1.-Formularios**

Su función es permitir el registro de las actividades y sus resultados al ejecutar un proceso o un POE, por lo tanto deben incluir espacios en blanco (campos) para registrar la información obtenida. Por su parte, los procesos y POEs tienen que hacer referencia y adjuntar el formulario pertinente, el cual debe contener los siguientes campos: identificación (organización, numeración, paginado y fecha); título; autoría, aprobación y actualizaciones con sus respectivas fechas; identificación de cambios, y localización.

En la figura 9, que se ejemplifica en el Formulario corresponde al procedimiento de No conformidades

#### **4.2.- Registros**

Los registros son documentos que proporcionan evidencias objetivas de actividades realizadas o resultados obtenidos. Se caracterizan porque:

- a) son consecuencia inmediata de ejecutar un procedimiento y documentar sus resultados;
- b) proporcionan la evidencia necesaria para establecer si la actividad o la tarea se adecuó al procedimiento correspondiente;
- c) no están sujetos a actualización porque no deben ser modificados (salvo en casos especiales y dejando constancia de todas las circunstancias del cambio, siguiendo los procedimientos al respecto).

Los registros pueden realizarse en medios impresos o electrónicos, y estar en formato analógico o digital.

Son registros impresos tanto los plasmados en papel (registros de: HPLC, Calibraciones diarias de equipos, controles de temperatura en el fraccionamiento, registros en las historias técnicas de agregados de reactivos, registros analíticos, etc.); como en material fotográfico o similar (geles de electroforesis).

Son registros electrónicos los obtenidos y guardados en estos medios (cintas o discos de sonido, de imagen, de datos, etc.).

El laboratorio debe garantizar que los registros no puedan ser modificados o que si lo son, quede constancia de ello y de quién y cuándo lo hizo, especialmente cuando sean más susceptibles a la modificación, como en el caso de los guardados en formato digital. Deben estar firmados y fechados por el operador en el caso de los registros impresos. En los registros digitales debe quedar constancia de quién y cuándo lo hizo. Todos los registros deben estar supervisados por un responsable designado para ello, en la forma y frecuencia especificada en los procedimientos.

Es esencial archivar los registros en forma segura y realizar copias de seguridad para el caso en que ocurra algún imprevisto (inundación, incendio) que pueda ocasionar su pérdida. Esto es fundamental en los laboratorios donde los registros y expedientes son indispensables para asegurar la **trazabilidad**. Los registros digitales deben tener siempre copias de seguridad, realizadas con la mayor frecuencia posible.

El archivo debe permitir una rápida recuperación y revisión. El tiempo que deben conservarse los registros estará determinado por las políticas del Centro de Biotecnología y regulaciones vigentes.

Por otra parte, la organización debe garantizar siempre la confidencialidad de los registros que contengan datos conforme a la normativa vigente, nacional o internacional, aplicable.

Un registro apropiado debe ser:

- Veraz (describe lo que efectivamente sucedió).
- Exacto (lleva doble verificación).
- Permanente (no usa lápiz ni tinta lavable).
- Oportuno (se realiza en tiempo real).
- Claro (entendible para todos).
- Coherente (en lo que hace a fechas, temperaturas, pesos, tiempos, etc.).
- Legible.
- No alterable (no usar corrector ni borrador).
- Completo (no deja espacios en blanco, cruza con una raya lo que no se llena).

 UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA FACULTAD DE FARMACIA CENTRO DE BIOTECNOLOGÍA		REGISTRO DE REPROCESOS	Código: F-0-CB-024-v.0	Página 1 de 1
		Elaborado por: Antonio De Souza	Revisado por: Alba M. Vargas	Aprobado por: COMITÉ DE APROBACIÓN

**IDENTIFICACIÓN**

NOMBRE DEL PRODUCTO: \_\_\_\_\_  
 CÓDIGO: \_\_\_\_\_ LOTE: \_\_\_\_\_  
 FASE: \_\_\_\_\_ CANTIDAD: \_\_\_\_\_  
 RAZÓN DE REPROCESO: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 RESPONSABLE \_\_\_\_\_  
 CARGO: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

PROCEDIMIENTO DEL REPROCESO: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 RESPONSABLE \_\_\_\_\_  
 CARGO: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

ACCIONES CORRECTIVAS: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 RESPONSABLE \_\_\_\_\_  
 CARGO: \_\_\_\_\_ FECHA: \_\_\_\_\_

Coordinador del Centro de Biotecnología \_\_\_\_\_  
 Responsable de Control de Calidad \_\_\_\_\_  
 Responsable de Producción \_\_\_\_\_

Figura 9: Ejemplo de Formulario de No Conformidades

**Sistema de control de la documentación**

El sistema de calidad debe establecer y mantener una organización estructurada de la documentación, que vincule las políticas, los procesos y los procedimientos, así como un formato y un contenido definidos y específicos para los POEs. Además debe contener los procesos necesarios para generar nuevos documentos y formularios; controlar la aprobación, distribución y archivo

de documentos y registros; controlar los cambios en los documentos; y controlar y archivar los documentos que sean obsoletos. Los documentos que pueden encontrarse en una organización pasan por diferentes situaciones, por lo que es muy importante diseñar un sistema de control que determine si deben o no aplicarse. Estas situaciones se resumen en el siguiente cuadro:

<b>Situación</b>	<b>Estatus</b>
<b>Vigencia</b>	El documento tiene pleno efecto después que el personal ha sido capacitado para usarlo.
<b>Revisión</b>	Se incluye en este concepto la revisión periódica de los documentos (Ej. POEs), para evaluar la validez del procedimiento, sin necesariamente traducirse en una modificación. En la medida en que se realizan mejoras a los procedimientos, los documentos deben ser actualizados
<b>Suspensión</b>	El documento pierde vigencia momentáneamente por un motivo determinado. Se debe establecer y comunicar la fecha de suspensión.
<b>Anulación</b>	El documento es suprimido definitivamente del sistema.
<b>Actualización/ modificación</b>	El documento sufre una modificación para hacerlo más apropiado.

Adicionalmente, los documentos claves del Sistema de Calidad, producción y Control de Calidad pueden tener dos tipos de ediciones o “copias”: controladas y no controladas:

## **Tipos de Copias**

## **Definición**

### **Copia controlada**

Es la copia de un documento cuyo control está evidenciado por la firma de una persona autorizada que garantiza la conformidad con el original y la lista de distribución.

La lista de distribución permite recuperar las copias controladas de los documentos obsoletos y el suministro de las versiones vigentes.

Es crucial contar siempre con la versión actualizada y autorizada del documento.

### **Copia no controlada**

Es la copia de un documento de la cual no se puede garantizar el origen ni su distribución.

Las copias no controladas son aquellas que por ejemplo se distribuyen a nivel informativo y siempre deben estar identificadas con una leyenda que las identifique como “copia no controlada”, además de un aviso que indique la necesidad de contar con una “copia controlada” cuando se pretenda utilizar dicha documentación para fines operativos.

Las versiones originales y controladas de todos los procesos, procedimientos y formularios vigentes se deben guardar, en un archivo maestro (de papel o

computadora) denominado “Manual de Procedimientos Operativos Estándar” (POEs). El Manual contiene las versiones originales de todos los documentos y formularios, las que sirven para preparar copias controladas para distribuir en las áreas de trabajo que lo requieran.

Las versiones anteriores de los documentos que han sido modificados se deben identificar como obsoletas (mediante sello, estampilla, color de hoja, etc.) para evitar que se confundan con las actualizadas.

La utilización de las fichas-resumen de tarjetas con indicaciones o de sistemas similares que resumen la información clave es aceptable como una referencia rápida en el puesto de trabajo, siempre que esté disponible el procedimiento completo. Las fichas-resumen o similares deben corresponder al procedimiento completo.

### **Índice Maestro**

Es un listado de todos los documentos que se utilizan en el laboratorio. La lista debe incluir la identificación (el nombre, número o código) y versión del documento, así como la fecha de su entrada en vigencia y además podría incluir la ubicación de las copias controladas.



## **Identificación de documentos**

Es necesario que exista un sistema de control donde todos los documentos y formularios estén identificados en forma alfanumérica, indicándose el tipo, función, número y versión del documento en cuestión. De esta manera se puede vincular rápidamente a los documentos y formularios con los POEs, determinando la versión de que se trata. Por ejemplo, una identificación alfanumérica para un documento debería contar de las siguientes partes, según el tipo del documento:

<b>Tipo</b>	MC: Manual de Calidad (nivel 1). PC: Proceso (nivel 2). PO: Procedimiento operativo estándar (nivel 3). F : Formulario (nivel 4).
<b>Área</b>	Define el área y puede expresarse con letras o números, por ejemplo: CC Control de Calidad. MB Microbiología MA Procesamiento analítico. IM Instrucción de Muestreo. FIN Finanzas RH Recursos Humanos

<b>Número</b>	Identifica el número consecutivo / correlativo del documento o procedimiento. En los formularios, al número se agrega una letra: (puede haber varios formularios para un mismo proceso).
<b>Versión</b>	Se identifica con números que van precedidos por una barra.

### **Fechado de los documentos**

Es preciso que cada documento lleve las fechas de redacción, revisión, aprobación y entrada en vigencia.

### **Cambios en los documentos**

Los documentos sólo deben modificarse mediante un proceso determinado, tanto para redactar los nuevos documentos y revisar los existentes, como para actualizar el índice maestro y distribuir y archivar los documentos controlados.

**Este proceso a su vez requiere de un POE de control de cambios** que defina los tipos de cambios, las responsabilidades y capacitación de personal necesarios, y garantice que los usuarios sólo tengan acceso a versiones vigentes de los documentos.

El Procedimiento de Control de Cambio justifica la utilización de un Formulario de Control de Modificaciones que permita registrar: Cuál es el cambio

propuesto?, Por qué es necesario realizarlo?, Quién lo solicitó?, ¿Quién lo aprobó?. ¿A quién y qué afecta? (POEs, personal, equipos, etc.). Si es de rutina o emergencia?. Fecha de su entrada en vigencia.

### Ejemplo de un Formulario de Control de Cambios

 UNIVERSIDAD CENTRAL DE VENEZUELA FACULTAD DE FARMACIA CENTRO DE BIOTECNOLOGIA		REGISTRO Y CONTROL DE CAMBIO	Código: F – G – CB– 038– v.0.	Página 1 de 1
Elaborado por: Antonio De Sousa		Revisado por: Alba M. Vargas	Aprobado por: COMITÉ DE APROBACIÓN	

Fecha de la solicitud: \_\_\_\_\_ N° de Registro: \_\_\_\_\_

Gerencia /Área solicitante del cambio: \_\_\_\_\_

Descripción del Cambio: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

Áreas Afectadas por el Cambio: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**EVALUACION DEL CAMBIO**

Crítico:  No Crítico:

Observación: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**ELEMENTOS AFECTADOS POR EL CAMBIO**

Instalaciones: <input type="checkbox"/>	Sistemas: <input type="checkbox"/>
Equipos: <input type="checkbox"/>	Instrumentos: <input type="checkbox"/>
Procesos: <input type="checkbox"/>	Métodos: <input type="checkbox"/>
Otro (Especifique): <input type="checkbox"/>	

Observación: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

**DOCUMENTOS AFECTADOS POR EL CAMBIO**

Procedimientos: <input type="checkbox"/>	Técnicas de Manufactura: <input type="checkbox"/>
Orden de Compra: <input type="checkbox"/>	Certificados: <input type="checkbox"/>
Protocolos: <input type="checkbox"/>	Otro (Especifique): <input type="checkbox"/>

Observación: \_\_\_\_\_  
 \_\_\_\_\_

<b>REGISTRO DE ELABORACIÓN</b>	<b>REGISTRO DE REVISION</b>
Solicitante del Cambio (Firma/ Fecha):	Responsable de Calidad (Firma/ Fecha):
<b>REGISTRO DE APROBACIÓN</b>	
Coordinador del Centro de Biotecnología (Firma/ Fecha):	

Figura 11: Formulario de Control de Cambios

Después de explicar cómo se implementa un sistema de Documentación, pasamos a desarrollar el Manual de Gestión de la Calidad en el que se hace referencia a los Procedimientos Operativos Estándar POEs, requeridos tanto por la Norma ISO 9001:2008 como por la norma BPM, Informe 32, OMS.

### **Manual de Calidad- Contenido**

El Manual de Calidad desarrollado contiene todos los Procedimientos Estándar de Operación requeridos por las normas BPM y los requeridos por la ISO 9001, además de los elementos del Sistema de Calidad ISO 9001:2008:

### **Elementos del Manual de Calidad según la Norma ISO**

a) **Introducción.-** Se presenta el manual de calidad como el resumen de lo que es un sistema de gestión de calidad del Centro de Biotecnología, mostrando los elementos que lo componen y de qué manera conduce a la Calidad.

b) **Descripción de la organización.-** Se indica el nombre de la empresa, su identificación legal, tipo de laboratorio y principales actividades que desarrolla; y la estructura funcional del laboratorio con su respectivo organigrama donde se describe:

- Las responsabilidades de la Dirección.
- Las responsabilidades del Encargado del Área de Calidad y su relación con la Dirección.

- Las responsabilidades del personal y sus capacitaciones cuando sea relevante.

c) **Política de Calidad.-** Se describe el conjunto de directrices, intenciones y compromisos del laboratorio con respecto a la calidad. Se puede incluir la Misión, la Visión y los Objetivos de la Calidad. Anualmente esta política es revisada por la Dirección para evaluar la necesidad de implementar cambios en los objetivos de calidad como resultado de un proceso de mejoramiento continuo.

d) **Capacitación del personal.-** Se muestra cómo se desarrollan los perfiles de trabajo para cada función en la organización y los programas, tanto de capacitación, como de educación continuada. Se recomienda al menos dos reuniones anuales entre la Dirección de la organización y el personal.

e) **Garantía o Aseguramiento de la Calidad.-** Se describe cómo se va a proporcionar la confianza en que se cumplirán los requisitos de calidad.

f) **Control de la Documentación.-** Se describe cómo se definen todos los procedimientos de las etapas a cumplir en los procesos de la organización. Siguiendo el modelo establecido para la documentación y cómo se los organiza en un Manual(es) de Procedimientos. Se define un sistema para la elaboración, identificación, liberación, distribución, archivo y cambio de documentos.

g) **Registros, su retención y archivo.-** Se describe un sistema de identificación, recolección, ordenamiento y almacenamiento seguro y confiable de todos los registros técnicos y de calidad. Se adecua el tiempo de

almacenamiento de los registros de acuerdo con las exigencias de la Autoridad Sanitaria y otros entes oficiales.

h) **Instalaciones y condiciones ambientales.-** Se describen las medidas para asegurar que los espacios y las condiciones ambientales son las adecuadas para la actividad prevista y el mantenimiento de la integridad de los registros y la protección de los usuarios, muestras y funcionamiento de equipos.

i) **Validación de los procedimientos de producción y control, equipos, sistemas de apoyo; etc. y de los resultados.-** Se hace referencia a la determinación de parámetros críticos.

j) **Seguridad.-** Se hace referencia a las medidas de bioseguridad implementadas para proteger a las personas, muestras y medio ambiente de acuerdo a normas nacionales y/o internacionales, según la clase de riesgo involucrado en las actividades del laboratorio en todas las etapas de producción y control. Se describen brevemente las normas de higiene y protección; y se hace referencia a los procedimientos para descontaminación de áreas por accidentes o derrames, los cuales deben ser obligatoriamente registrados.

k) **Aspectos medioambientales.-** Se muestra el compromiso de protección y conservación del medio ambiente a través de procedimientos y programas proactivos que evitan su deterioro.

l) **Investigación y desarrollo.-** se muestra en qué campos y con qué idoneidad se hacen la investigación y desarrollo, a través de publicaciones o boletines

institucionales registrados y accesibles: **Este aspecto fue excluido del Manual.**

n) **Lista de procedimientos Operativos Estándar (POEs)**

o) **Control de la calidad.**- Se muestra la sistematización de control de calidad (interno) y la participación en programas de evaluación externa de la calidad. Se hace referencia a las acciones correctivas en caso de no conformidad.

p) **Sistema de información del laboratorio.**- Se describen los procedimientos necesarios para garantizar la confidencialidad y la integridad de la información.

q) **Informe de resultado.**- Se describe el procedimiento de informe de resultados, según un formato institucional que incluya los rangos biológicos.

r) **Acciones correctivas y manejo de reclamos.**- Se describen los procedimientos para la resolución de reclamos y el mantenimiento de sus registros, así como de las investigaciones y las acciones correctivas tomadas.

s) **Comunicación e interacción con usuarios y proveedores.**- Se hace referencia a los procedimientos para evaluar y seleccionar proveedores y Terceros, así como a los de las encuestas de satisfacción de los usuarios

t) **Auditorías internas.**- Se muestra cómo se tienen formalmente planificadas y organizadas las auditorías y cómo se realizan, tanto a sistemas administrativos como técnicos.

u) **Ética.**- Se muestra a través de un código de ética, cómo la organización y sus profesionales son responsables ante los usuarios y la comunidad.

## **1. Objetivo General:**

Desarrollar un Manual de Procedimientos para la producción de las antiveninas, del Centro de Biotecnología de la Facultad de Farmacia de la Universidad Central de Venezuela, diseñado bajo el modelo de las normas ISO 9001:2008 y las Buenas Prácticas de Manufactura, Informe 32- OMS, con los procedimientos de operación estándar (POEs) requeridos para cumplir los requisitos de ambas normas.

## **2. Objetivos Específicos:**

2.1.-Determinar las necesidades del Centro de Biotecnología en materia de la documentación relacionada con los equipos, materiales y procesos que allí se realizan, para su adecuación a los requerimientos BPM de los diferentes textos consultados.

2.2.-Desarrollar el marco del Manual bajo los requerimientos de la ISO 9001:2008

2.3-Desarrollar los procedimientos de operación estándar de los equipos instrumentales utilizados para el procesamiento de las antiveninas.

2.4.-Desarrollar los procedimientos de operación estándar cumpliendo las exigencias BPM, Informe 32, OMS- Anexo 1, para cubrir todas las etapas involucradas en la producción de las antiveninas: preparación de los inóculos, pruebas de inocuidad, fraccionamiento, diálisis, neutralización y elaboración.

2.5.-Desarrollar los procedimientos de operación estándar para la recepción, almacenamiento y procesamiento de los plasmas provenientes de la finca Río Mar ubicada en la ciudad de Paracotos, Estado Miranda, Venezuela.

## **Metodología:**

Para la elaboración de este Trabajo especial de grado y la adecuación de los procedimientos a las normas de BPM y Norma ISO 9000: 2008 se realizó la siguiente consulta bibliográfica:

1. Normas de Buenas Prácticas de Manufactura (Informe 32-OMS) adoptadas por el MPPPS. Gaceta Oficial 38.009, Agosto 2004.
2. Normas de Buenas Prácticas de Distribución. Gaceta Oficial de la República Bolivariana de Venezuela, N° 37.966 (extraordinaria), Junio 23, 2004.
3. Norma ISO 9000:2005 Organización Internacional de Normalización. Sistema de Garantía de Calidad, fundamento y vocabulario.
4. Norma ISO 9001: 2008 Organización Internacional de Normalización. Requisitos de Sistemas de Gestión de Calidad.
5. Norma ISO 17025 (2005) Organización International Normalizada. Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y de calibración.
6. ISO /IEC 10013(2001). Directrices para la documentación de sistemas de gestión de la calidad. Organización Internacional de Normalización (ISO) ISO Central Secretariat, 1 rue de Varembé, Case Postale 56, CH-1211, Geneve 20, Switzerland

7. World Health Organization WH. Guidelines for the production, Control and Regulation of snake Antivenom immunoglobulins. WHO Expert Committee on Biological Standardization at its 59th meeting which took place in Geneva from 13 to 17 October 2008 and will be published in the WHO Technical Report Series.

Para el cumplimiento de los objetivos establecidos, se llevaron a cabo los siguientes pasos:

1. Se realizó conjuntamente con el personal del Centro de Biotecnología, la revisión de los procedimientos de manufactura y control de calidad, a objeto de detectar las oportunidades de mejora de los documentos que manejan; y los procedimientos que no están documentados.
2. Se determinó cuáles eran los documentos faltantes, mediante la revisión de los capítulos de la BPM, que aplican al Centro de Biotecnología.
3. Se adecuaron los procedimientos existentes y se redactaron los faltantes
4. Se elaboró el Manual de Procedimientos Operativos Estándares (POEs).

## **RESULTADOS:**

La elaboración del Manual de Procedimiento del Centro de Biotecnología tuvo como objetivo fundamental dar fiel cumplimiento a las exigencias regulatorias de las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura establecidas en el Informe 32 de la Organización Mundial para la Salud, de manera de garantizar un alto nivel de calidad de las Antiveninas y a la vez adecuar los procesos a los estándares internacionales ISO, a fin de mantenerlos bajo control y permitirle a esta Organización ampliar los horizontes y acceder a otros mercados.

En este Trabajo se lograron los objetivos previstos General y específicos; y otros complementarios de gran importancia para coadyuvar los procesos del Laboratorio de Biotecnología; es decir:

1.- Se desarrolló el Manual de Procedimientos acorde con los requerimientos de las Normas de Buenas Prácticas de Manufactura Informe 32 OMS e ISO 9001:2008, y se implementaron las “Directrices para la documentación de los sistemas de gestión de la calidad” ISO/IEC 10013:2001.

2.- En total se redactaron 12 procedimientos generales de la ISO 9001: 2008 y 47 procedimientos generales de las Buenas Prácticas de Manufactura, Informe 32 OMS, los cuales se redactaron, se revisaron, se aprobaron y se incluyeron en el Manual para garantizar procesos eficientes en las etapas más críticas de

producción, almacenamiento, distribución y control de calidad de las Antiveninas.

3.- Como complemento de esos objetivos;

- Se diseñó un Sistema de Gestión de Calidad acorde con ISO 9001:2008”, que no estuvo previsto en el Proyecto original pero que fue realizado para garantizar la implementación de los Procedimientos Operativos Estándar y garantizar que el Centro de Biotecnología sea una organización perdurable en el tiempo que pueda además acceder a mercados internacionales.

4.- Se desarrolló un Sistema de Documentación para la Gestión de la Calidad, dentro del cual, se incluyeron los procedimientos de operación y formularios de registro para la mejora continúa

5.- Se desarrolló un Sistema documental de Control de Calidad: especificaciones técnicas de materias primas, material de envase y empaque; productos a granel y productos terminados; métodos analíticos y certificados de análisis.

Procedimientos Generales para el cumplimiento de la Norma ISO 9000:2008

Código	Procedimiento
P-G-CB-001-v.0	REDACCION DE DOCUMENTOS
P-G-CB-003-v.0	BUENAS PRACTICAS DE DOCUMENTACION
P-G-CB-005-v.0	ACCIONES CORRECTIVAS Y PREVENTIVAS
P-G-CB-009-v.0	CONTRATO CON TERCEROS
P-G-CB-011-v.0	TRATAMIENTO DE QUEJAS Y RECLAMOS DE PRODUCTOS
P-G-CB-012-v.0	CONTROL DE DOCUMENTOS
P-G-CB-013-v.0	AUDITORIA DE DOCUMENTACION
P-RH-CB-003-V.0	ELABORACIÓN DE INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN PARA EL ENTRENAMIENTO
P-RH- CB- 004-v0	DETERMINACIÓN DE NECESIDADES DE ADIESTRAMIENTO
P-G-CB-032-v.0	AUDITORIA Y SELECCIÓN DE PROVEEDORES DE MATERIALES E INSUMOS
P-G-CB-033-v.0	AUDITORIAS INTERNAS Y / O AUTOINSPECCION
P-G-CB-038-v.0	REGISTRO Y CONTROL DE CAMBIO

Procedimientos Generales para el cumplimiento de las BPM que incluyen los  
procedimientos de Control de Calidad

P-G-CB-004-v.0	CONSUMO DE ALIMENTOS EN EL CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
P-G-CB-006-v.0	USO DE UNIFORMES
P-G-CB-007-v.0	REANALISIS Y REMUESTREO DE MATERIAS PRIMAS
P-G-CB-008-v.0	INSPECCION Y MUESTREO DE MATERIAL DE EMPAQUE
P-G-CB-018-v.0	DETENCION DE PERSONAL EN CONDICIONES INSEGURAS DE SALUD
P-G-CB-021-v.0	ESTUDIOS DE ESTABILIDAD NATURAL Y ACELERADA
P-G-CB-023-v.0	LINEAMIENTOS DE MANUFACTURA A TERCEROS
P-G-CB-024-v.0	ANALISIS CON TERCEROS
P-G-CB-025-v.0	LLENADO DE TARJETAS DE DISPENSACION DE MATERIAS PRIMAS
P-G-CB-026-v.0	REPROCESO Y RECUPERACION DE LOTES
P.-G-CB-027-v0	MUESTREO E INSPECCION DE PRODUCTO TERMINADO
P-G-CB-028-v.0	REVISION DE EXPEDIENTES DE LOTE
P-G-CB-029-v0	NORMAS DE COMPORTAMIENTO Y DE SEGURIDAD EN EL CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
P-G-CB-034-v.0	LINEAMIENTOS PARA PRODUCTOS, MATERIALES Y MATERIAS PRIMAS NO CONFORMES
P-G-CB-035-v.0	MANEJO DE MUESTRAS DE RETENCION
PG-CB-036-v.0	RECEPCION DE MATERIAL DE EMPAQUE
P-G-CB-037-v.0	INSPECCION VISUAL DE VIALES Y AMPOLLAS
P-G-CB-039-v.0	MANEJO, CUIDADO Y ORDEÑO DE SERPIENTES
P-G-CB-040-v.0	DEVOLUCION DE MATERIALES DE PRODUCCION
P-G-CB-041-v.0	RECHAZOS DE PRODUCTOS Y MATERIALES
P-G-CB-042-v.0	MANEJO, CUIDADO , INMUNIZACION Y SANGRIA DE CABALLOS
P-G-CB-043-v.0	PREPARACION DE INOCULOS
P-G-CB-044-v.0	RECEPCION DE PLASMA, FRACCIONAMIENTO Y PURIFICACION
P-G-CB-045-v.0	CONTROL DE CALIDAD, ESTABILIDAD. ALMACENAMIENTO Y DISTRIBUCION DE ANTIVENINAS
P-G-CB-046-v.0	LLENADO DE TARJETAS PARA IDENTIFICACIÓN DE ESTATUS DE LIMPIEZA DE AREA, EQUIPOS Y UTENSILIOS
P-G-CB-047-v0	MANEJO, CUIDADO Y ORDEÑO DE ESCORPIONES
P-G-CB-048-v.0	ENSAYO O TEST DE COGGINS
P-G-CB-049-v.0	REGISTRO ACTUALIZACION Y CONTROL DE FORMULAS MAESTRAS
P-MB-CB-001-v.0	IMPLEMENTOS BASICOS DEL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
P-MB-CB-002-v.0	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE PERSONAL
P-MB-CB-003-v.0	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MATERIAL DE EMPAQUE PRIMARIO

P-MB-CB-004-v.0	CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MATERIAS PRIMAS
P-MB-CB-005-v.0	INVESTIGACION DE MICROORGANISMOS INDICADORES ESPECIFICOS
P-MB-CB-006-v.0	PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVOS
P-MB-CB-007-v.0	RUTINA DIARIA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA
P-MB-CB-008-v.0	DESCONTAMINACION DE MATERIAL DE VIDRIO Y DESECHABLE
P-MB-CB-009-v.0	ANALISIS MICROBIOLÓGICO DE AGUAS
P-MB-CB-010-v.0	PRUEBA DE PROMOCION DE CRECIMIENTO
P-MB-CB-011-v.0	NORMAS DE SEGURIDAD EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGÍA
P-G-CB-001-v.0	REDACCION DE DOCUMENTOS
P-G-CB-003-v.0	BUENAS PRACTICAS DE DOCUMENTACION
P-G-CB-012-v.0	CONTROL DE DOCUMENTOS
P-RH-CB-004-v0	DETERMINACIÓN DE NECESIDADES DE ADIESTRAMIENTO
P-RH-CB-003-V.0	ELABORACIÓN DE INSTRUMENTOS DE EVALUACIÓN PARA EL ENTRENAMIENTO
P-G-CB-033-v.0	AUDITORIAS INTERNAS Y / O AUTOINSPECCION
	Instalaciones
PG-CB-020-v.0	RECEPCION DE PODUCTO SEMITERMINADO
PG-CB-050-v.0	PREPARACION DE PEDIDOS
PG-CB-052-v.0	DISTRIBUCION DE PRODUCTO TERMINADO
P-G-CB-029-v0	NORMAS DE COMPORTAMIENTO Y DE SEGURIDAD EN EL CENTRO DE BIOTECNOLOGIA
P-G-CB-010-v.0	RETIRO DE PRODUCTOS DEL MERCADO
P-G-CB-053-v.0	FUMIGACION DE ALMACENES
P-G-CB-011-v.0	TRATAMIENTO DE QUEJAS Y RECLAMOS DE PRODUCTOS
P-G-CB-040-v.0	DEVOLUCION DE MATERIALES DE PRODUCCION
P.-G-CB-051-v.0	CONDICIONES DE ALMACENAMIENTO DE INSUMOS Y PRODUCTOS TERMINADOS
P.-G-CB-030-v.0	APROBACION DE INSUMOS Y PRODUCTOS TERMINADOS
P-G-CB-041-v.0	RECHAZOS DE PRODUCTOS Y MATERIALES
P.-G-CB-027-v0	MUESTREO E INSPECCION DE PRODUCTO TERMINADO
P-G-CB-023-v.0	LINEAMIENTOS DE MANUFACTURA A TERCEROS
P-G-CB-032-v.0	AUDITORIA Y SELECCIÓN DE PROVEEDORES DE MATERIALES E INSUMOS
IT-L-CB-013-v.0	LIMPIEZA DEL CENTRO DE BIOTECNOLOGIA

## **CONCLUSIONES:**

Los accidentes con animales ponzoñosos (escorpiones y serpientes), son un problema de salud pública a nivel mundial, que aumenta en los países pobres debido al alto costo de la elaboración de las Antiveninas y su disponibilidad en los mercados.

La Organización Mundial de la Salud ha incluido a las Antiveninas en la lista de medicamentos esenciales, considerando que éstas son el único antídoto eficaz para el tratamiento clínico de los accidentes ponzoñosos y que su obtención requiere procesos delicados y de estricto control ya que de su efecto depende la vida del paciente; razones suficientes para que se fabriquen con altos estándares de calidad. Esto significa que no solo se requiere aplicar controles rigurosos al proceso productivo y cumplir los requerimientos de las Normas BPM, sino que es necesario implementar herramientas complementarias a toda la organización para lograr procesos exitosos.

En consecuencia, las Normas BPM aplicables a los productos farmacéuticos fueron complementadas con los requisitos ISO 9001:2008 para lograr la eficiencia de la organización sobre todo en lo que respecta a la gestión de los recursos y a la medición, análisis y mejora de los procesos.

El Manual de Calidad diseñado tiene las bondades siguientes:

- Permite cumplir la normativa legal vigente.
- Es eficiente para controlar los procesos de la Organización.
- Sirve de Guía de trabajo e inspección para los directivos y demás empleados de la Organización; así como para Proveedores y otras partes interesadas en realizar Contratos.
- Sirve de Guía para las inspecciones regulatorias.
- Es una excelente referencia del Centro de Biotecnología.
- Brinda confiabilidad y seguridad a los productos que se elaboran en el Centro de Biotecnología.
- Garantiza la disponibilidad del producto para garantizar la vida del pueblo venezolano.
- Asegura la proyección internacional de los productos biotecnológicos elaborados en tan prestigioso Centro.
- Incrementa la labor social del Centro Biotecnológico a través de la elaboración de sus productos y causa impacto en los servicios que brinda al país la Universidad Central de Venezuela.

## REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

1. Von Behring E, S. Kitasato Über das Zustande kommen-der-Diphtherie Immunität und der Tétanos-Immunität bei Thieren. Deutsche Medizinische Wochenschrif de 1890, 16:1113-1145.
2. Phisalix C, Bertrand G. Sur la Propiedad antitoxique du cantó des animaux vacunas contre le Venin de vipère. Comptes Rendus de la Société de Biologie, 1894, 46:111-113.
3. Calmette A. Contribución à l'étude du serpientes Venin des. La inmunización des animaux et traitement de l'envenimation ", Annales de l'Institut Pasteur, VIII, 1894:275-291.
4. Suero antiofídico Polivalente Biol, liofilizado Instituto Biológico Argentino S.A.I.C, puente J.E Uriburu 153-1027 C.A.B.A.- Argentina, Web. Site WWW.biol.com.ar
5. Papa CG. La acción de las enzimas proteolíticas sobre las antitoxinas y las proteínas en el suero inmune. I. Verdadero digestión de las proteínas. British Journal of Experimental Pathology, 1939a, 20:132-149.
6. Papa CG. La acción de las enzimas proteolíticas sobre las antitoxinas y las proteínas en el suero immune II, desnaturalización de calor después de la acción enzimática parcial. British Journal of Experimental Pathology, 1939b, 20:201-212.
7. Dra. Aracelis Pino Cheroni, Producción de Suero Antiofídico en Uruguay Revista médica Uruguay, vol. 10 N°3 Diciembre 1994, pág. 147-154 Citado 05

de Julio de 2010 disponible en URL  
<http://www.rmu.org.uy/revista/1994v3/art1.pdf>

8. Horacio F. Laborde, Cynthia Sevcee, Carmen Iegnani, Preparación y ensayo de un antiveneno ( inmunoglobulina antiofídica) liofilizado activo contra veneno de Bothrops Neuwiedii (yara) Revista medica Uruguay ,Vol.5 Nª 1 Mayo 1989 pág. 20-27 Citado 04 de Julio 2010 Disponible en URL  
<http://www.rmu.org.uy/revista/1989v1/art3.pdf>

9. Sitio web del Instituto Clodomiro picado. Universidad de Costa Rica Citado 04 de Julio 2010 Disponible en URL: <http://www.icp.ucr.ac.cr/04>

10. José A. Gené , Maribel Gómez , Luis Cerdas, Estudio Sobre la Estabilidad Neutralizante del suero antiofídico contra veneno de Terciopelo ( Bothrops asper) Citado 04 de Julio 2010 Disponible en : URL:  
<http://www.binass.sa.cr/revistas/rccm/v7n1/art1.pdf>

11. World Health organization WH. Guidelines for the production, Control and Regulation of snake Antivenom immunoglobulins.. WHO Expert Committee on Biological Standardization at its 59th meeting which took place in Geneva from 13 to 17 October 2008 and will be published in the WHO Technical Report Series.

12. Lista Modelo OMS de Medicamentos Esenciales, 15ª ed, Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2007.  
[http://www.who.int/medicines/publications/08\\_ENGLISH\\_indexFINAL\\_EML15.pdf](http://www.who.int/medicines/publications/08_ENGLISH_indexFINAL_EML15.pdf)

13. Cámara Venezolana de fabricantes de Cervezas CAVEFACE, 25 años de Soluciones en Salud Pública, Caracas 2009.
14. Guía de Buenas Prácticas de Manufactura (Informe 32-OMS) Adoptadas por el Ministerio del Poder Popular para la Salud. MPPPS- Venezuela 2004.
15. World Health organization WH. Guidelines for the production, Control and Regulation of snake Antivenom immunoglobulins.. WHO Expert Committee on Biological Standardization at its 59th meeting which took place in Geneva from 13 to 17 October 2008 and will be published in the WHO Technical Report Series.
16. Nishioka SA et al. Mecanismo de producción en cautividad con víboras lanza de cabeza (*Bothrops moojeni*): la experiencia de una granja de serpientes en Brasil. *Medicina Tropical y Salud Internacional*, 2000, 5:507-510.
17. Gans C, KA Gans, Leloup P. Varios aspectos de la cría serpiente venenosa en gran escala. *Acta Zoológica et Pathologica Antverpiensia*, 1984, 78:177-198.
18. Landon J, Smith D. Fundamentos de antisueros oveja para la fabricación de suero antiofídico. *Diario de Toxicología: Opiniones toxina*, 2003, 22:15-22.
19. Landon J, JA Woolley, McLean C. La producción de anticuerpos en la gallina. En: anticuerpos Landon J, T Chard (eds.) terapéuticos. Londres, Springer-Verlag, 1995:47-68.
20. Theakston RDG, DA Warrell, Griffiths E. Informe de un taller de la OMS sobre la normalización y control de antivenenos. *Toxicon*, 2003, 41:541-557.

21. Directrices sobre la distribución de la infecciosidad en los tejidos encefalopatías espongiformes transmisibles. Ginebra, Organización Mundial de la Salud 2006:1-53

([Http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf](http://www.who.int/bloodproducts/cs/TSEPUBLISHEDREPORT.pdf)).

Consultada el 23 de junio de 2011

22. Y Angulo, R Estrada, JM Gutiérrez. Clínica y las alteraciones de laboratorio en los caballos durante la inmunización con venenos de serpientes para la producción de polivalentes (Crotalinae) antiveneno. Toxicon, 1997, 35:81-90.

23. Gillian Chaloner-Larsson, Ph.D, GCL Bioconsult. Guía para la inspección de fabricantes de productos biológicos Preparada. Ottawa, Canadá. Organización Mundial de la Salud, Ginebra: 1997.

24. Aseguramiento de la calidad de los productos farmacéuticos. Un compendio de directrices y materiales relacionados. Vol. 2, segunda actualización ed. Las buenas prácticas de fabricación y la inspección. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2007 (<http://www.who.int/medicines>). Consultada 01 de julio de 2011

25. Directrices para la inactivación viral y los procedimientos de traslado destinadas a garantizar la seguridad viral de los productos sanguíneos humanos plasma. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2004 (Serie de Informes Técnicos N ° 924): consultada el 20 de junio de 2011

[http://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO\\_TRS\\_924\\_A4.pdf](http://www.who.int/bloodproducts/publications/WHO_TRS_924_A4.pdf).

26. Recomendaciones para la producción, control y regulación de plasma humano para fraccionamiento. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 2007, Anexo 4 (OMS Serie de Informes Técnicos N ° 941): consultada 25 de junio de 2011

<http://www.who.int/bloodproducts/publications/TRS941Annex4blood.pdf>.

27. Nota orientativa sobre la producción y control de calidad de las inmunoglobulinas de los animales y inmunosuero para uso humano (CPMP/BWP/3354/99). Londres: Agencia Europea para la Evaluación de Medicamentos (EMA), 2002:1-14 consultada 18 de junio de 2011 (<http://www.emea.europa.eu/pdfs/human/bwp/335499en.pdf>).

28. Bolaños R, Cerdas L. Producción y control de sueros antiofídicos de en Costa Rica. Boletín de la Oficina Sanitaria Panamericana, 1980, 88:189-196.

29. G Rojas, JM Jiménez, JM Gutiérrez. Fraccionamiento de plasma hiperinmune de caballos con ácido caprónico: descripción de un procedimiento simple para la producción de suero antiofídico. Toxicon, 1994, 32:351-363.

30. Otero R et al. Un ensayo clínico ciego aleatorio de dos antivenenos, preparado por el ácido caprónico o fraccionamiento con sulfato de amonio de IgG, en mordeduras de serpiente Bothrops y Porthidium en Colombia: la correlación entre la seguridad y las características bioquímicas de los antivenenos. Toxicon, 1999, 37:895-908.

31. Steinbuch M, Audran R. El aislamiento de IgG en sueros de mamíferos con la ayuda de ácido caprílico. Archivos de Bioquímica y Biofísica, 1969, 134:279-284.
32. Ariaratnam CA et al. Un nuevo antiveneno monoespecífico ovina Fab fragmento para el tratamiento de envenenamiento por el de Sri Lanka de víbora de Russell (*Daboia russelii russelii*): un estudio farmacocinético dose finding preliminares. Revista Panamericana de Medicina Tropical e Higiene, 1999, 61:259-265.
33. RGA Jones, Landon J. Un protocolo para 'la digestión de pepsina reforzada ": un método paso a paso para la obtención de fragmentos de anticuerpos puros alto rendimiento a partir del suero. Revista de Métodos inmunológicos, 2003, 275:239-250.
34. Raweerith R, K. Ratanabanangkoon Fraccionamiento de antiveneno equino usando la precipitación del ácido caprílico en combinación con la cromatografía catiónica de intercambio iónico. Revista de Métodos inmunológicos, 2003, 282:63-72.
35. Finney DJ. Análisis Probit, 3<sup>a</sup> ed. Cambridge, Cambridge University Press, 1971.
36. La prueba de potencia biológica para la preparación de suero antiofídico. Comité de Expertos sobre Estandarización Biológica, BS/90.1641. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1990.

37. Avances en la caracterización de los venenos y la normalización de antivenenos. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1981 (Publicación en offset N ° 58).

38. BURGOS, I., 1996, Gerenciando la Productividad. Imprenta Universitaria. UCV. Caracas, Venezuela

## **GLOSARIO**

### **Adyuvante completo de Freund (FCA)**

Un adyuvante que puede ser utilizado en el proceso de vacunación de los animales para mejorar el sistema inmunológico respuesta a los venenos. Está compuesto de aceite mineral, un emulsionante y se inactivan Mycobacterium la tuberculosis.

### **Adyuvante incompleto de Freund (FIA)**

Un adyuvante que puede ser utilizado en el proceso de vacunación de los animales para mejorar el sistema inmunológico respuesta a los venenos. Se compone de aceite mineral y un emulsificante.

### **Aféresis**

Procedimiento mediante el cual se extrae la sangre del donante, separadas por medios físicos en componentes y uno o varios de ellos regresaron al donante.

### **Antiveninas**

Una fracción purificada de inmunoglobulinas o fragmentos de inmunoglobulinas fraccionadas del plasma de los animales que han sido inmunizados contra venenos de serpientes o una mezcla de Venenos de Serpientes.

### **Antivenina mono-específicos**

Define Antiveninas que son limitadas en el uso de una sola especie de serpiente venenosa o para unas pocas especies estrechamente relacionadas con los venenos que presentarse clínicamente eficaces de neutralización

cruzada con la Antiveninas. El término "monovalentes" se usa con frecuencia y tiene el mismo significado.

### **Antivenina poliespecífico**

Define Antiveninas que se obtienen por fraccionamiento del plasma de animales inmunizados por una mezcla de venenos de varias especies de serpientes venenosas. El término "polivalente" es a menudo utiliza y tiene el mismo significado.

### **Antiveninas Polivalentes**

Antiveninas contra venenos varios, preparado mezclando plasma monoespecíficos diferentes antes del proceso de fraccionamiento de plasma, o purificada fracciones Antiveninas monoespecífico antes de la etapa de llenado aséptico.

### **Área Limpia**

Un área con un control definido del medio ambiente de partículas y contaminación microbiana, construido y utilizado de tal forma que se reduzca la introducción, generación y retención de contaminantes dentro del área.

### **Autorización Para Comercializar (licencia del producto, certificado de registro)**

Documento legal emitido por la autoridad competente en materia de reglamentación farmacéutica, que establece la composición y formulación detalladas del producto y las especificaciones de la farmacopea u otras

especificaciones reconocidas de sus ingredientes y del producto final y que incluye detalles sobre envasado, etiquetado y tiempo de conservación.

**Buenas prácticas de manufactura (BMP), también denominadas Prácticas Adecuadas de Fabricación (PAF) en el Informe 32- OMS**

La parte de la garantía de calidad que garantiza que los productos son elaborados y controlado a las normas de calidad apropiadas para el uso previsto y según lo dispuesto por el autorización de comercialización o pliego de condiciones. Tiene que ver con la producción y control de calidad.

**Calibración**

El conjunto de operaciones que establece, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición (especialmente de pesaje), registro y control, o los valores representados por una medida material y los correspondientes valores conocidos de un patrón de referencia. Es preciso establecer los límites de aceptación de los resultados de las mediciones.

**Comprobación**

Acción documentada que demuestra que un procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema conduce a los resultados previstos.

**Componente de la sangre**

Fracciones separadas de una unidad de sangre u obtenidas por aféresis

**Contaminación**

La introducción no deseada de impurezas de naturaleza microbiológica o

química, o de materia extraña, en superficie o un material inicial o intermedio durante la producción, muestreo, envasado, o re envasado, almacenamiento o transporte.

### **Contaminación cruzada**

La contaminación de una materia prima, producto intermedio o producto terminado con otra materia prima o producto durante la producción.

### **Control del proceso**

Controles realizados durante la producción para controlar y, si es necesario, para ajustar el proceso para asegurar que el antiveneno se ajusta a las especificaciones. El control del medio ambiente o el equipo puede También se considerará como parte del control durante el proceso.

### **Cruz-neutralización**

La capacidad de un antivenina formuladas contra un veneno, o un grupo de venenos, reaccionar y neutralizar los efectos tóxicos del veneno de una especie relacionada no incluidos en la mezcla de inmunización.

### **Cuarentena**

Un período de aislamiento forzado y la observación general para contener la propagación de una enfermedad infecciosa la enfermedad entre los animales. La misma terminología que se aplica al período de aislamiento utilizado para realizar control de calidad de plasma antes de fraccionamiento o de inmunoglobulinas Antiveninas antes de la liberación y distribución.

Estado de las materias primas o de envasado, o materiales intermedios, o productos a granel o acabados, aislados por medios físicos o por otros medios eficaces, mientras se espera una decisión acerca de su autorización, rechazo o reprocesamiento.

### **Desecación**

Un proceso de almacenamiento en las que los venenos son deshidratados al vacío en presencia de sales de calcio o el ácido fosfórico.

### **Dosis efectiva media (o la dosis efectiva 50%) (DE50)**

La cantidad de Antivenina que protege el 50% de los animales de laboratorio inyectada con un número de DL50 de veneno.

### **Dosis letal media o de la dosis letal 50% (DL50)**

La cantidad de venenos de serpiente, que se inyecta por vía intravenosa o por vía Intraperitoneal, que conduce a la muerte del 50% de los animales en un grupo después de un período de tiempo determinado (generalmente 24-48 horas).

### **EET**

Encefalopatía espongiiforme transmisible.

### **Enfermedad del suero**

Es una reacción alérgica sistémica que puede ocurrir en el transcurso de una a dos semanas después de la administración de cualquier suero extraño o medicamento. Esta enfermedad se debe principalmente a complejos antígeno-anticuerpo circulantes inducidos por el agente agresor. Se caracteriza por

fiebre, malestar general, urticaria, linfadenopatía, artralgias o artritis, náuseas, vómito, cefalea y dolor abdominal; rara vez hay neuropatía.

### **EIA**

Inmunoensayo enzimático.

### **Envasado**

Todas las operaciones, incluyendo las de llenado y etiquetado, a las que son sometidos los productos a granel para que se convierta en un producto acabado.

### **Envenenamiento**

Proceso por el cual el veneno fue inyectado en un ser humano por el emponzoñamiento de una serpiente venenosa, lo que manifiesta manifestaciones patológicas (también llamada envenenamiento).

### **Esclusa de Aire**

Un lugar cerrado, con dos o más puertas, que se interpone entre dos o más habitaciones que sean, por ejemplo, de diferentes grados de limpieza, que tiene por objeto controlar el flujo de aire entre dichas habitaciones cuando se precisa ingresar a ellas. Una esclusa de aire está destinada a ser utilizada por personas o cosas.

### **Especificaciones**

Documento que describe detalladamente las condiciones que deben reunir los productos o materiales usados u obtenidos durante la fabricación. Las especificaciones sirven de base para la evaluación de la calidad.

### **Extracción de la sangre**

Un procedimiento mediante el cual una sola donación de sangre se recoge en un anticoagulante y / o la estabilización de la solución, en condiciones en que minimizar la contaminación microbiológica de los resultantes de donación.

### **Fab**

Un fragmento de inmunoglobulina monovalente resultante de la digestión proteolítica de inmunoglobulinas por papaína.

### **F (ab ' )<sub>2</sub>**

Un fragmento de inmunoglobulina bivalente resultantes de la digestión proteolítica de inmunoglobulinas por la pepsina.

### **Fabricar**

Todas las operaciones de compra de materiales y productos, producción, control de calidad, liberación, almacenamiento y la distribución de las inmunoglobulinas Antivenina de serpientes, y los controles relacionados

### **Fabricación**

Todas las operaciones que incluyan la adquisición de materiales y productos, producción, control de la calidad, autorización de circulación, almacenamiento, embarque de productos acabados y los controles relacionados con estas operaciones.

### **Faboterapia**

Tratamiento basado en la inmunidad pasiva a través de la administración de fracciones F (ab)<sub>2</sub> de inmunoglobulinas polivalentes equinas, concentradas y purificadas, específicas que neutralizan a las toxinas de los venenos.

### **Faboterápicos**

Antivenina de la tercera generación libre de virus, altamente purificada mediante el proceso de digestión enzimática para eliminar Fc de las inmunoglobulinas, obteniendo las fracciones F(ab)<sub>2</sub> encargadas de la neutralización de los venenos.(56)

### **Fraccionamiento**

Proceso a gran escala por la cual se separa el plasma de los animales para aislar la fracción de inmunoglobulina, que es procesada para su uso terapéutico o pueden ser sometidos a digestión con pepsina o papaína para generar fragmentos de inmunoglobulinas.

El fraccionamiento término se utiliza generalmente para describir una secuencia de procesos, en general, incluyendo la precipitación de proteínas plasmáticas y / o cromatografía, ultrafiltración y fases de filtrado.

### **Fórmula Maestra**

Documento (o conjunto de documentos) que especifique las materias primas con sus cantidades y materiales de envasado y que incluya una descripción de los procedimientos y precauciones que deben tomarse para producir una

cantidad específica de un producto acabado, como también las instrucciones para el procesado y el control durante el procesado.

**IgG**

Inmunoglobulina G.

**IgM**

Inmunoglobulina M.

**Ingrediente Farmacéutico Activo**

Una sustancia o compuesto a utilizarse en la fabricación de un producto farmacéutico como compuesto farmacológico activo (ingrediente).

**Inmunización**

Proceso por el cual se inyecta a un animal con el veneno (s) para producir una larga duración y alto título- la respuesta de anticuerpos contra los componentes nocivos letal y otros en el inmunógeno.

**Inmunoglobulina**

Anticuerpo, molécula generada mediante la inmunización de un animal (generalmente un caballo) en contra de una serpiente veneno o una mezcla de venenos de serpiente.

**Lote**

Cantidad definida de materia prima o producto fabricado en un proceso único o una serie de procesos de manera que se espera que sea homogéneo.

### **Materia Prima**

Toda sustancia de calidad definida empleada en la fabricación de un producto farmacéutico, excluyendo los materiales de envasado.

### **Material de Envasado**

Cualquier material, incluyendo el material impreso, empleado en el envasado de un producto farmacéutico, excluyendo todo envase exterior utilizado para el transporte o embarque. Los materiales de envasado se consideran primarios cuando están destinadas a estar en contacto directo con el producto y secundarios cuando no lo están.

### **Número de Lote**

Una combinación bien definida de números y/o letras que identifique específicamente un lote en las etiquetas, registros de lotes, certificados de análisis, etc.

### **Ordeño**

El proceso de recolección de veneno de serpientes vivas.

### **Plasma**

La porción de líquido que queda después de la separación de los elementos celulares de la sangre recogida en un recipiente que contenga un anticoagulante, o separado por filtración o centrifugación de continua sangre anticoagulada en un procedimiento de aféresis.

### **Plasmaféresis**

Procedimiento en el cual se extrae sangre del donante, el plasma se separa de los elementos celulares por sedimentación, filtración, centrifugación o, como mínimo, las células rojas de la sangre son devueltas al donante.

### **Prion**

Una partícula de proteína que se cree que es capaz de auto-replicarse y ser el agente de infección en una variedad de enfermedades del sistema nervioso, como la enfermedad de las vacas locas y otras transmisibles encefalopatías espongiformes transmisibles (EET). Por lo general, no se cree que contengan ácido nucleico.

### **Producción**

Todas las operaciones involucradas en la preparación de las inmunoglobulinas Antiveninas, de preparación de venenos, la inmunización de animales, recolección de sangre o plasma, el procesamiento, envasado y etiquetado, a su final, como un producto terminado.

Todas las operaciones involucradas en la preparación de un producto farmacéutico, desde la recepción de los materiales, a través del procesado y el envasado, hasta llegar al producto acabado.

### **Producto a granel**

Cualquier producto que ha completado todas las etapas de procesamiento hasta, pero no incluyendo el envasado aséptico y embalaje final.

### **Producto biológico**

Cualquier preparación producida o sintetizada a partir de organismos biológicos o sus productos (incluyendo las que utilizan biotecnología y otras tecnologías de vanguardia) y usada como agente de diagnóstico, agente preventivo o agente terapéutico. Para su aplicación el producto se puede presentar en diferentes formas farmacéuticas.

### **Procedimiento estándar de operación (SOP)**

Procedimiento escrito autorizado que contiene instrucciones para realizar operaciones que no necesariamente son específicas para un producto o material determinado, sino de naturaleza más general (por ejemplo: manejo, mantenimiento y limpieza de equipos; comprobación; limpieza de instalaciones y control ambiental; muestreo, e inspección). Algunos procedimientos de esta naturaleza pueden utilizarse como complemento de la documentación específica para un producto, sea ésta una documentación maestra o referente a la producción de lotes.

### **Proceso Crítico**

Proceso que puede causar variación en la calidad del producto farmacéutico.

### **Producto Acabado**

Producto que ha sido sometido a todas las etapas de producción, incluyendo el envasado en el contenedor final y el etiquetado.

### **Producto Farmacéutico**

Todo medicamento destinado al uso humano, o todo producto veterinario administrado a animales de los que se obtienen alimentos, presentado en su forma farmacéutica definitiva

### **Registro de Lotes**

Todos los documentos relacionados con la fabricación de un lote de productos a granel o producto terminado. Ellos ofrecen un historial de cada lote de producto y de todas las circunstancias pertinentes a la calidad del producto final.

### **Registro Maestro**

Documento o conjunto de documentos que sirven como base para la documentación del lote (registro de lote en blanco).

### **Reprocesado**

Reelaboración de todo o parte de un lote de producto de calidad inaceptable en una etapa definida de la producción, de tal forma que su calidad se eleve hasta ser aceptable, por medio de una o más operaciones adicionales.

### **Suero**

Porción de líquido que queda después de la coagulación de la sangre. Suero tiene una composición similar a la del plasma (Incluyendo las inmunoglobulinas), aparte de fibrinógeno y otros factores de la coagulación que constituyen el coágulo de fibrina.

### **Toxina**

Una sustancia tóxica, especialmente una proteína que es producida por células

vivas o de los organismos y es capaz de causar enfermedad cuando se introduce en los tejidos del cuerpo. A menudo también es capaz de inducción de anticuerpos neutralizantes o antitoxinas.

### **Trazabilidad**

Capacidad para localizar cada individuo serpiente, el veneno, los animales inmunizados, o unidad de sangre o plasma utilizados en la producción de una inmunoglobulina antídoto con el lote fraccionado final. El término se utiliza para describir el seguimiento de avance y retroceso.

### **Validación**

Acción de la prueba, de conformidad con los principios de buenas prácticas de fabricación, que cualquier procedimiento, proceso, equipo, material, actividad o sistema conduce realmente a los resultados esperados.

### **Veneno**

La secreción tóxica de una glándula del veneno especializado que, en el caso de las serpientes, se entrega a través de los colmillos y provoca efectos nocivos. Venenos suelen abarcar diferentes componentes de las proteínas de estructura variable y toxicidad.

Los venenos son mezclas complejas de proteínas tóxicas, las cuales son responsables del envenenamiento.

## **ANEXOS EN CD**

Anexo N° 1 Manual de Calidad

Anexo N°2 Procedimientos Generales P-G-CB-001.v.0 al P-G-CB-020.v.0

Anexo N° 3 Procedimientos Generales P-G-CB-021.v.0 al P-G-CB-040.v.0

Anexo N° 4 Procedimientos Generales P-G-CB-041.v.0 al P-G-CB-053.v.0

Anexo N° 5 Procedimientos de Mantenimiento

Anexo N° 6 Procedimientos de Control de Calidad

Anexo N° 7 Procedimientos de Microbiología

Anexo N° 8 Instrucciones de Trabajo de Operación

Anexo N° 9 Instrucciones de Trabajo de Limpieza

Anexo N° 10 Técnicas de Análisis de Materias Primas, Material de envase - empaque y Producto a granel y terminado

Anexo N° 11 Procedimientos Recursos Humanos

Anexo N° 12 Procedimientos de Finanza