

31
2ej.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

VALIDACION DE UN PROCESO DE ESTERILIZACION
Y DESPIROGENADO DE AMPOLLETAS Y FRASCOS
VIALES EN EL HORNO DE UN LABORATORIO
FARMACEUTICO

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

FROILAN CRUZ CRUZ



MEXICO, D. F.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

1991



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

I . INTRODUCCION Y OBJETIVO	2
II. GENERALIDADES	4
III. PARTE EXPERIMENTAL	45
IV. RESULTADOS	66
V. CONCLUSIONES	83
VI. GLOSARIO	84
VII. BIBLIOGRAFIA	89

1. INTRODUCCION

En la Industria Farmaceutica es comun el uso de hornos y tuneles que utilizan calor seco para la esterilizacion y el despirogenado de una gran variedad de materiales usados en la fabricacion de productos parenterales. Las caracteristicas del calor seco, entre ellas su habilidad para destruir pirogenos por incineracion, lo hacen el método de eleccion para procesar una gran variedad de componentes de vidrio, ademas, es una opción para la esterilización de materiales que no son compatibles con los procesos que utilizan vapor u óxido de etileno, tales como, aceites, unguentos, algunos principios activos resistentes al calor y excipientes. El equipo usado para este tipo de procesos varia de lo simple a lo complejo y va desde un horno de laboratorio que utiliza convección natural y que consiste en una caja aislada con un elemento de calentamiento y un termostato bimetalico, a un túnel usado para el despirogenado de viales o ampollitas, que puede tener sofisticados controles computarizados para mantener y llevar el control de las temperaturas, el flujo de aire, presión relativa, velocidad de la banda y otros parámetros. Pero para todos estos equipos, ya sean grandes o pequeños, sofisticados o sencillos, se debe contestar apropiadamente a una pregunta relativamente simple: Realmente hacen lo que se espera de ellos?

Para poder contestar esta pregunta se ha creado toda una metodología de trabajo conocida en los últimos años como VALIDACION. Este trabajo tiene como objetivo validar el equipo y el proceso de esterilizado y despirogenado por calor seco utilizado en la preparación de las ampollitas de 1 ml y frascos viales de 50 ml, previo a su domiciliado en un área limpia del departamento de fabricacion de soluciones inyectables

de un Laboratorio Farmacéutico.

Entre los puntos a tratar se encuentran:

- Breve descripción de lo que es la validación y las razones de su existencia.
- Tipos de esterilizadores por calor seco comúnmente utilizados en la Industria Farmacéutica.
- Breve descripción de la mecánica de los procesos de esterilización por calor seco:
 - CONVECTIVO, CONDUCTIVO Y POR RADIACION y la importancia de la circulación del aire dentro del equipo.
- Calificación de la instalación y operación del horno y sus reportes.
- Preparación del protocolo de validación, describiendo las pruebas llevadas a cabo durante el proceso y los procedimientos de calibración para el equipo utilizado.
- Estudios del desarrollo del ciclo determinando el tiempo y la temperatura para lograr un apropiado esterilizado y despirogenizado.
- Secuencia del programa de validación, incluyendo cámara vacía, cámara cargada, estudios de biocarga y biocarga.
- Certificación del programa de validación, documentación requerida y revalidación.

En la parte experimental se presentan:

- Adaptaciones hechas al horno.
- Resultados del perfil de distribución de temperatura con cámara vacía, cámara cargada, estudios de penetración del calor y desafío biológico con endotoxina de *Escherichia coli*.
- Conclusiones.
- Bibliografía.
- Glosario (A, B, C, D, E, F, G, H, I, J, K, L, M, N, O, P, Q, R, S, T, U, V, W, X, Y, Z).

II GENERALIDADES

BREVE DESCRIPCION DE LO QUE ES LA VALIDACION.

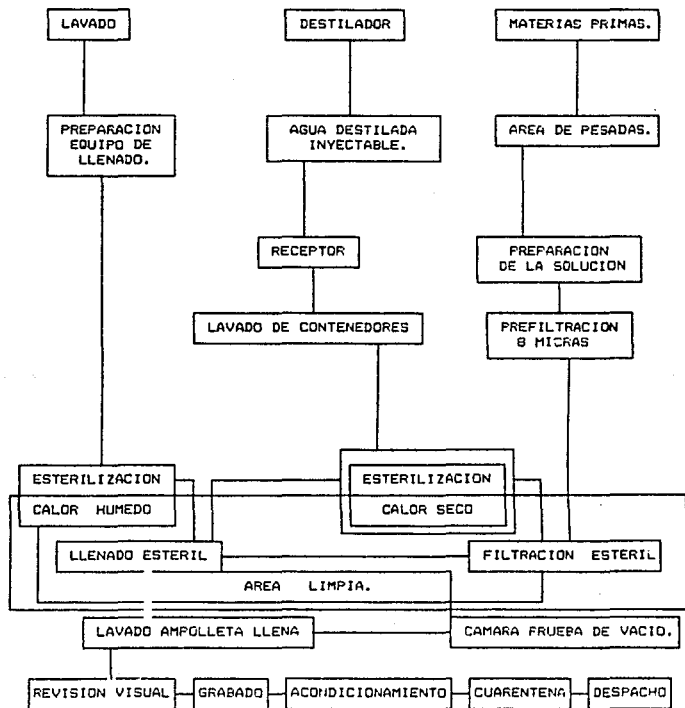
En la figura 1 se muestra un diagrama de proceso, típico para una solución Inyectable, en la cual se ilustra la esterilización y despirogenización de frascos viales ó ampollitas como un requisito imprescindible, previo al dosificado en el área controlada.

Las referencias mencionan que un ciclo normal de esterilización deberá proveer un mínimo de 170°C por no menos de 2 horas, mientras que un ciclo de despirogenización deberá tener un mínimo de 250°C por no menos de 30 minutos .

El trabajo consiste en demostrar que el proceso cumple adecuadamente con su objetivo, es decir que el horno efectivamente esteriliza y despirogeniza el material de envase necesario para el producto y que cada vez que el proceso se lleve a cabo como lo indica el procedimiento respectivo, se tenga la seguridad de que será reproducible. Para ésto, es necesario contar con la documentación necesaria que demuestre éste hecho. Si todas las pruebas realizadas se documentan adecuadamente y los resultados son satisfactorios, se habrá validado el proceso de esterilizado y despirogenizado en éste equipo, ya que la validación se puede definir como la evidencia documentada la cual provee un alto grado de seguridad para un proceso específico, de que consistentemente produce un producto que reúne las especificaciones y los atributos de calidad predeterminados .

Aparte de la ventaja obvia de conocer más a fondo el procedimiento con el que se está trabajando, la validación de procesos como filosofía de la compañía es una herramienta básica de la prevención de fallas con el consecuente ahorro económico, ya que el muestreo normal y el análisis e

DIAGRAMA DE PROCESO DE
UNA SOLUCION INYECTABLE.



EN TODOS LOS PASOS INTERVIENE CONTROL DE CALIDAD.

FIGURA 1

inspección del producto final no provee la validez estadística suficiente para dar seguridad en la obtención de un producto de calidad consistente y tampoco puede garantizar que los diversos factores del sistema ideados para asegurar la calidad, seguridad y eficiencia estén funcionando según fue definido en el diseño. Esto solamente se puede conocer identificando los componentes y pasos críticos del proceso y demostrando que sus características son repetibles de lote a lote del producto.

Un sistema validado repercute en la calidad de lo producido ya que reduce sustancialmente los costos de inspecciones, rechazos de productos, evita reprocesos, disminuye mermas, evita el uso excesivo de materiales; en almacenes ayuda a disminuir inventarios, evita devoluciones, etc.

En el área de mercadotecnia al mejorar la productividad es posible la captura de una mayor porción del mercado, ya que se cuenta con productos de mayor calidad y menor costo. Además es conveniente mencionar que en los últimos tiempos la validación se ha convertido en una exigencia legal por parte de las Autoridades Sanitarias.

Por todo lo anteriormente expuesto, la validación de procesos, sistemas y métodos analíticos ayuda a la empresa a permanecer en el negocio.

La validación de un proceso de esterilización por calor seco debe incluir los siguientes pasos:

- Protocolo del proceso.
- Calificación de la instalación del equipo.
- Calificación de la efectividad del equipo básico.
- Calibración de los sensores, monitores y controles críticos.
- Calificación de las características termodinámicas de la unidad.
- Calificación de la ingeniería del proceso.

- Certificación Microbiológica del proceso.
- Revisión de los datos obtenidos de las pruebas efectuadas.
- Certificación final de la documentación.
- Seguimiento de la validación, (revalidación), y control de los parámetros y pasos críticos.

Como se puede intuir por lo anteriormente expuesto, la validación es necesariamente un proceso multidisciplinario en el cual se conjugan elementos de ingeniería, microbiología, farmacia industrial, física, química, electrónica, computación, instrumentación, estadística y muy a menudo algo de sentido común y de negocios con el fin de mantener las cosas en perspectiva.

La forma en que se integre el comité de Validación, así como las jerarquías y responsabilidades depende de las políticas y recursos de cada compañía (2, 3, 7, 10, 12, 17).

TIPOS DE ESTERILIZADORES POR CALOR SECO COMUNMENTE UTILIZADOS EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA.

La esterilización o el despirogenado de materiales y equipo en la Industria Farmacéutica se puede lograr por dos métodos, el primero de ellos es llamado proceso de convección por lote y se define como aquel en que se predetermina la cantidad de producto que es sujeto simultáneamente a un ciclo por convección. El segundo método es llamado proceso por convección continua en la cual una cantidad de material es conducida a una velocidad previamente establecida a través de un ciclo de convección para efectuar la esterilización o el despirogenado.

Los hornos se clasifican en varios tipos a saber:

- a) De convección natural.
- b) De convección forzada.
- c) De túnel infrarrojo.
- d) De túnel por convección forzada.
- e) De flama continua.

Los hornos que utilizan convección natural tienen poca utilidad ya que por razones que se verán mas adelante el proceso es poco confiable y solo se utiliza en áreas muy limitadas como es el caso de secado de material de vidrio.

Los hornos esterilizadores con convección forzada, (figura 2), son los más comunes y utilizan los principios de la transferencia de calor por convección para calentar los componentes dentro de la cámara y se puede variar tanto el tiempo de calentamiento como la temperatura de los ciclos, para esterilizar o despirogenizar diferentes tipos de materiales tales como:

Vidriería (frascos viales, ampollitas, matraces etc.).

Equipo de acero inoxidable (tolvas, herramientas).

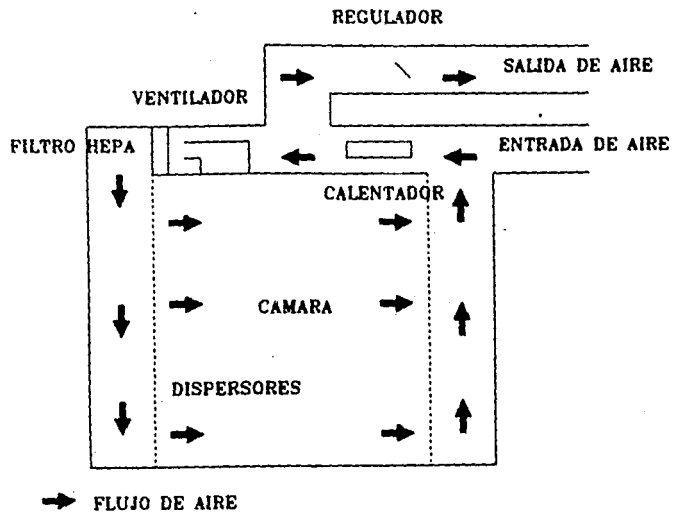


FIGURA 2 ESQUEMA DE UN HORNO POR CONVECCION FORZADA.

Productos, polvos, vehículos no acuosos), etc.

Generalmente los artículos son preparados en un área no esteril controlada, empleando controles tales como acceso limitado, niveles de partículas reducido, conocimiento de la calidad del aire, etc.).

Los artículos se cargan en los carros charoleros y estos son colocados en la cámara del horno. A la mayoría de los hornos se les asignan ciclos que exceden a los valores requeridos, tanto en tiempo como en temperatura con el fin de tener un margen de seguridad extra para conseguir la esterilización o el despirogenizado. Los ciclos típicos emplean temperaturas de 180°C a 300 °C, las temperaturas más bajas, obviamente serán para esterilizar y las más altas para despirogenizar.

Al final del ciclo de calentamiento existe una fase de enfriamiento con el fin de minimizar los efectos del choque térmico de los componentes, evitando con esto la fragilidad y desprendimiento de partículas de vidrio en los frascos viales y ampollitas, e incrementando la seguridad en su manejo (figura 3). En la mayoría de las instalaciones se emplea una doble puerta y la carga entra del lado no aséptico y sale del lado aséptico. (figura 4), donde será utilizada en el proceso de llenado.

Los esterilizadores de túnel pueden usar la transferencia de calor por convección, similar a los hornos o usar radiación infrarroja para producir la esterilización o el despirogenado, estos esterilizadores de túnel operan continuamente y tienen capacidad para esterilizar mayor cantidad de frascos viales o ampollitas que los hornos. (figura 5).

Al igual que en los hornos, las ampollitas o los frascos viales son lavados y colocados sobre el lado no aséptico del túnel y son transportados a lo largo de él (3 - 7,5 mts), en donde van encontrando diferentes temperaturas del aire (figura 6).

El material de vidrio se calienta en la porción inicial y media del

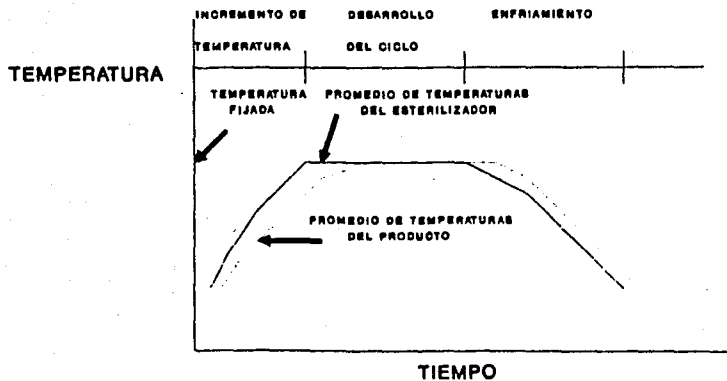
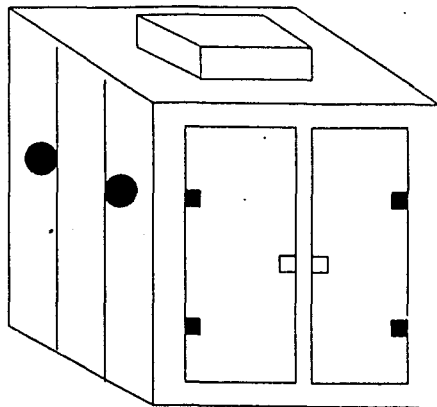


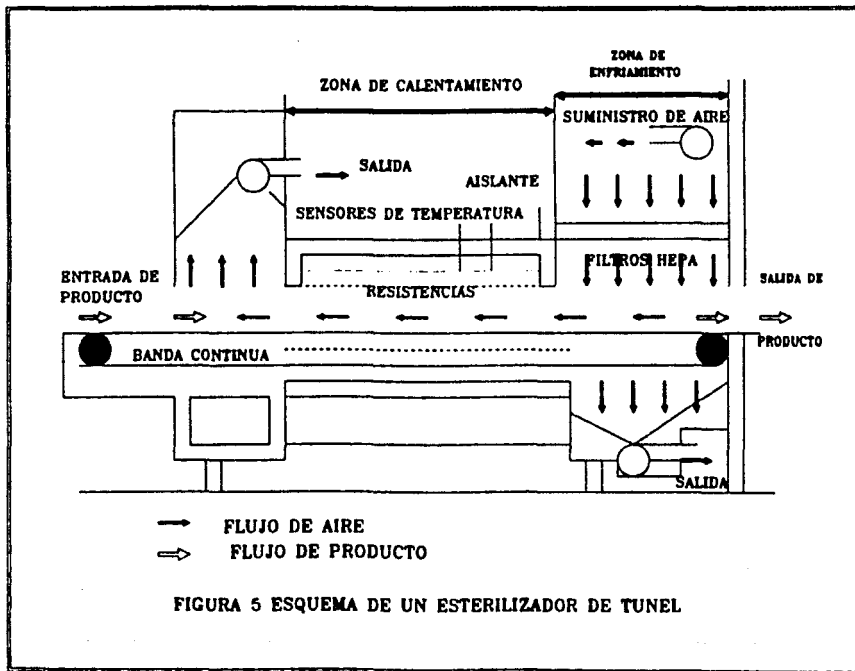
FIGURA 3 CICLO TIPICO DE UN HORNO ESTERILIZADOR POR LOTE

**SALIDA DE
CONTENEDORES**
AREA ESTERIL



ENTRADA DE CONTENEDORES AREA NO ESTERIL

FIGURA 4



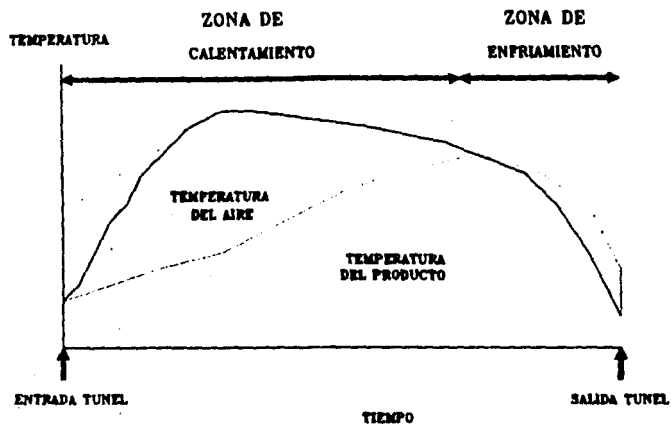


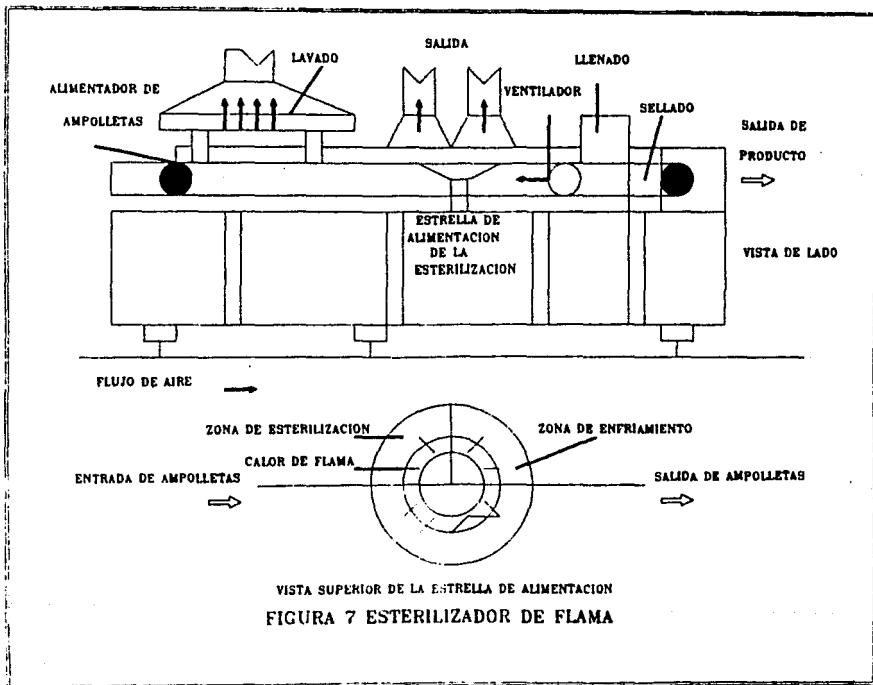
FIGURA 6 CICLO NORMAL DENTRO DE UN ESTERILIZADOR DE TUNEL

tunel a 250°C - 450°C y gradualmente se entra por aire filtrado a través de filtros HEPA. Este aire puro entra al interior al final del tunel y del proceso de esterilización (ver figura 5). El aire filtrado es calentado por resistencias electricas y emplea los mismos principios que la convección forzada de los hornos.

El tunel esterilizador por infrarrojo está equipado con una fuente de radiación infrarroja, la cual puede provenir de una resistencia o un tubo de cuarzo. Los termopares para controlar el calentamiento están colocados dentro de la zona de esterilización. El calentamiento y el tiempo de exposición pueden ser afectados por la geometría, el color, la superficie y la composición de los artículos que serán tratados, así como de la temperatura del aire y su velocidad.

Los esterilizadores de flama utilizan la conducción y la convección para transferir el calor en el proceso continuo para tratar ampollitas, éstas se colocan sobre la banda, son lavadas con agua para inyectables y colocadas sobre una plataforma de alimentación, la cual gira y las ampollitas son calentadas aproximadamente a 370°C por el calor proveniente de una flama, las ampollitas pasan de la cámara de calentamiento a un compartimento donde son gradualmente enfriadas por aire proveniente de filtros HEPA.

Las ampollitas frías pasan a la zona de llenado, en donde, después de ser dosificadas son selladas a la flama (figura 7).



PRINCIPIOS DE TRANSFERENCIA DE CALOR

La esterilización por calor, siempre que su aplicación no afecte la resistencia o estabilidad de los materiales, es el sistema que más conviene aplicar por ser el que resulta no sólo el más eficaz y seguro, sino que ha sido el mejor estudiado y está dotado de equipos adecuados a todas las situaciones que se puedan presentar en la práctica.

Para su aplicación correcta se requiere un conocimiento básico de la energía utilizada, sus formas de transmisión y aplicación, también es necesario conocer el comportamiento de los microorganismos frente a las diversas formas de aplicación del calor, en especial el calor seco que es el que nos ocupa y el grado de resistencia que estos gérmenes pueden presentar.

El calor es una forma de energía capaz de ser transferida de un sistema a otro cuando existe una diferencia de temperatura. La temperatura, por lo tanto marca el nivel de la energía interna del sistema y la transferencia del calor está determinada por esta diferencia, la naturaleza de los cuerpos y el medio en que se transmite. El calor puede ser transferido por tres mecanismos: conducción, convección y radiación.

CONDUCCION: Es el mecanismo típico de transferencia de calor entre los cuerpos sólidos y se produce sin transferencia de materia, también se le denomina transmisión molecular ya que se basa en la transmisión de energía cinética de una molécula a su vecina.

CONVECCION: Es el mecanismo de transferencia de calor característico de los fluidos y se produce principalmente por el cambio de densidad que determina la presencia de un foco calórico, cuando el calor pasa de un sólido caliente a un fluido, o de un fluido a otro. El fenómeno es complejo, hay aparte de la cesión de energía cinética de las moléculas,

un intercambio de materia que se encuentra a temperaturas y densidades distintas.

RADIACION: Esta transferencia se hace bajo la forma de ondas electromagnéticas ubicadas en un intervalo de longitudes de onda del espectro designadas como radiación infrarroja, se extienden desde una micra para el infrarrojo próximo, hasta las cien micras para el infrarrojo lejano. Todo cuerpo por arriba del cero absoluto emite energía radiante que se transmite en línea recta con la velocidad de la luz y como ésta sigue las leyes de la reflexión, cuando es absorbida por otro cuerpo, la energía radiante se transforma en calor. La fracción de radiación que es absorbida por un cuerpo constituye una característica del mismo y en el caso en que no refleje ninguna fracción de energía su capacidad de absorción es igual a la unidad y lo define como un cuerpo negro. El cuerpo negro ideal es el que no refleja nada de la energía radiante que incide sobre él. Para efectos prácticos las superficies mate oscuras se aproximan al cuerpo negro teórico, mientras que las superficies pulidas, sobre todo las metálicas y las de color blanco reflejan mucha radiación, sin embargo en un espacio cerrado, por ejemplo en el interior de un horno cuya temperatura se puede considerar uniforme, todas las sustancias pueden ser consideradas como cuerpos negros, cualquiera que sea su naturaleza.

CINETICA DE LA ESTERILIZACION POR EL CALOR.

La destrucción de un microorganismo por la aplicación de calor seco es la resultante de alguna reacción química, que posiblemente ocurre en un solo punto del organismo y tal vez involucrando solamente una o dos moléculas complejas. Se han propuesto dos mecanismos para la destrucción de microorganismos por calor seco. El primero de ellos es debida a la reacción de una molécula compleja del microorganismo y el

oxígeno. Reacciones de oxidación de este tipo, en presencia de gran exceso de oxígeno, son típicamente de primer orden. El segundo mecanismo es la activación directa de la molécula por la energía calorífica, seguida por rotura de enlaces químicos internos sin la intervención de otras moléculas. Estudios de cinética de reacción química muestran que reacciones de este tipo son también de primer orden.

Si se acepta esto, se puede esperar que cualquiera de estos mecanismos en que se produzca la esterilización por el calor, estará caracterizada aproximadamente por una cinética de primer orden.

Si N_0 es el número de microorganismos viables presentes inicialmente, N el número que permanece vivo a un tiempo t y N' al número que ha muerto después del mismo tiempo t a temperatura constante, por analogía con la ecuación general para reacciones de primer orden, la velocidad de reacción estará dada por la ecuación:

$$-\frac{dx}{dt} = k(a - x)$$

Reemplazando:

$$-\frac{dN}{dt} = k(N_0 - N) = -kt$$

Integrando: $kt = \ln \left(\frac{N_0}{N} \right)$ o $\ln \frac{N}{N_0} = -kt$

N/N_0 representa la fracción de microorganismos viables que sobreviven luego de un tratamiento por calor a temperatura constante, durante un tiempo t , y k es una constante que depende de la temperatura.

El efecto de la temperatura sobre la constante, (velocidad de muerte térmica), sigue una cinética de primer orden. La forma integrada de la

ecuación de Arrhenius es :

$$\ln k = C - \frac{E}{RT}$$

Siendo,

R = Constante general de los gases.

T = Temperatura absoluta.

E = Energía de activación.

C = Constante.

Para cada temperatura se puede obtener un valor de k. Si estos valores para varias temperaturas son graficados como $\ln k$ en función de $1/T$ se obtendrá una línea recta que representa la ecuación de Arrhenius. La pendiente de esta recta es igual a $-E/R$, de donde se puede calcular la energía de activación y la ordenada al origen dará el valor de C.

Estas dos constantes, (la de activación y la de Arrhenius), caracterizan efectivamente la destrucción térmica de un microorganismo dado, bajo las condiciones de ensayo, de modo que, usando la ecuación de Arrhenius y la de velocidad, podemos calcular el tiempo requerido para cualquier reducción fraccional de la población a una temperatura dada.

En teoría, la ecuación no admite que el número de microorganismos (N) descienda a cero, ya que para eso t debiera ser infinito.

$$\ln \left(\frac{M}{N_0} \right) = -kt$$

CURVAS DE RESISTENCIA TERMICA. La destrucción de los microorganismos por el calor no se produce en forma instantánea, existiendo una relación entre la temperatura, el tiempo y las condiciones generales del producto a esterilizar. (pH, sustancias protectoras, grado de contaminación, textura, etc.). Según este criterio, los microorganismos pueden clasificarse en dos grandes grupos sobre la base de su resistencia al

calor.

- Células vegetativas, mohos y levaduras, cuya resistencia térmica es relativamente pequeña.
- Bacterias esporuladas, capaces de sobrevivir al ser sometidas a temperaturas de 100 °C y mayores durante tiempos relativamente largos. De ahí que no pueda hablarse de temperatura letal en un sentido absoluto, sino en todo caso de una relación temperatura tiempo, que define la resistencia de cada uno o un conjunto de microorganismos en condiciones prefijadas.

El trazado de las curvas de resistencia térmica se efectúa obteniendo primero los gráficos de supervivencia, en los que se expresa la razón de mortalidad en función de la intensidad y duración del tratamiento y responden a la clásica ecuación de tipo exponencial en función del tiempo, cuya representación sobre papel semilogarítmico da lugar a curvas sensiblemente rectas. Con estas consideraciones se han logrado formular las siguientes leyes generales de la esterilización.

Primera ley:

Para una temperatura dada, el número de gérmenes o esporas sobrevivientes al tratamiento térmico decrece en forma exponencial en función del tiempo de aplicación del tratamiento. Este decaimiento representa la destrucción de microorganismos y la curva corresponde a la ecuación $N = N_0 e^{-kt}$.

Las curvas que representan gráficamente esta ley son las llamadas curvas de supervivencia e indican la mortalidad en función de la intensidad y duración del tratamiento térmico.

Cuando el número de microorganismos sobrevivientes tiene un valor equivalente al 10% del inicial:

$$k = \frac{2.3}{t} \log \frac{N_0}{0.1 N_0} = \frac{2.3}{t} \log 10 = \frac{2.3}{t} \quad \text{por lo tanto} \quad k = \frac{2.3}{t}$$

Donde t = tiempo de reducción decimal y representa el tiempo necesario para disminuir en un 90% la población microbiana inicial.

Comunmente a ese tiempo se le denomina D y su valor depende del tipo de microorganismo, del medio en que se encuentra y de la temperatura de tratamiento. Por regla general, cuando se representan los valores de D en función de la temperatura sobre una escala semilogarítmica, puede confirmarse que guardan una relación lineal y ésta es independiente del número inicial de microorganismos.

Segunda ley de destrucción de microorganismos por el calor: Para una misma reducción de una población microbiana dada, la duración del tratamiento térmico decrece en forma exponencial en función de la elevación de la temperatura.

Aquí se introduce el concepto del parámetro Z , que es la elevación de temperatura que reduce la duración del tratamiento a 1/10 de su valor.

El parámetro Z es constante para una población determinada y es independiente de la reducción decimal considerada.

TRANSFERENCIA DE CALOR APLICADO A LOS ESTERILIZADORES.

Los esterilizadores de calor seco generalmente usan el método de la convección de calor para incrementar la temperatura del producto.

El aire caliente transfiere energía a los artículos dentro del horno, debido a que éstos están a una temperatura más baja. La velocidad de transferencia de calor, (rapidez con la que los artículos se calentarán), está relacionada al calor específico de los diferentes materiales. El aire tiene la desventaja de tener un calor específico relativamente bajo, por lo tanto, la transferencia de energía tiene una

velocidad baja. El vapor saturado es un excelente medio para una adecuada transferencia de calor, ya que tiene un calor específico relativamente alto ($C_p = 1.0 \text{ Btu/lb}_m \text{ } ^\circ\text{F}$) comparado con el del aire ($C_p = 0.1715 \text{ Btu/lb}_m \text{ } ^\circ\text{F}$).

Sin embargo como se detallara mas adelante, en ciertos casos el vapor no se puede utilizar y el calor seco sera el procedimiento idoneo.

La conduccion en un esterilizador ocurre cuando el aire caliente alrededor del producto transfiere energia calorifica al material frio, cuando los electrones con un alto estado de excitacion bombardean y chocan con los electrones de baja energia del material, la excitacion de las moleculas del material incrementa los niveles de la energia molecular, lo cual hace que aumente su temperatura. Una sustancia con una alta conductividad termica es un buen conductor del calor y se calentara mas rapido que un material con conductividad termica baja. Un ejemplo de buen conductor del calor es el acero inoxidable, un ejemplo de mal conductor del calor es el aire y el vidrio.

La radiacion es el tercer metodo comunmente usado para el proceso de esterilizacion por calor seco y puede usarse como unica fuente de calor, o puede emplearse en combinacion con los metodos convectivo y/o conductivo.

Debido a que el aire caliente tiene un bajo calor especifico y una poca conductividad termica, es necesario alargar los periodos de esterilizacion a temperaturas mas altas que aquellas requeridas en la esterilizacion por vapor. La carga a esterilizar se calienta y se enfría muy lentamente y tiene tendencia a la estratificacion de temperaturas, causando grandes variaciones de temperatura en el interior de la cámara durante todo el ciclo. A pesar de estas limitaciones, el calor seco es preferido al calor humedo como un metodo para producir la

esterilización o el despirogenado de algunos materiales específicos, tales como artículos de vidrio como las ampollitas o los frascos viales porque estos deben estar secos para el llenado, el acero inoxidable, debido a que en ocasiones presenta superficies poco accesibles para la penetración del vapor y desde luego, artículos que se pueden corroer con la humedad, también algunos productos que se dañan o contaminan en presencia de agua, (petrolato, aceites, vehículos no acuosos, grasas y polvos), etc.. Para ayudar y agilizar el proceso de calentamiento se emplea un sistema para incrementar la circulación del aire que permite, durante el ciclo de calentamiento, el movimiento del aire frío de la cámara a la zona más caliente previniendo la estratificación de la temperatura. La circulación del aire es igualmente útil al final del ciclo de calentamiento para enfriar la carga.

Generalmente se utilizan los ventiladores para hacer circular el aire a través de la cámara. (Ver figura 2). Los ventiladores pueden ser de paletas o del tipo jaula de ardilla, pueden tener bandas o transmisión directa.

El determinar la velocidad del aire dentro de todos los tipos de esterilizadores es un paso necesario y esencial para la validación, dado que es un factor importante para la velocidad de transferencia del calor. Se utiliza un medidor de velocidad de aire para determinar las velocidades del flujo de entrada, salida y en el interior de la cámara. Si el esterilizador es utilizado para suministrar material a un medio ambiente aseptico, se requiere el balance del sistema de aire y debe existir una ligera presión positiva del área aseptica hacia el esterilizador abierto, con el fin de prevenir la contaminación del área. El esterilizador debe tener una ligera presión positiva con respecto al área no aseptica para prevenir el flujo de aire sucio al esterilizador.

Lo ideal es que el aire sea suministrado por una manejadora de aire filtrado, ya que con ésto se asegura una carga baja de partículas con una temperatura y humedad controladas. Los filtros HEPA pueden utilizarse para limpiar tanto el aire suministrado como el aire en circulación, éstos filtros deben estar diseñados para resistir las temperaturas de operación y deben ser verificados periódicamente para asegurar su integridad. Es necesario determinar la cantidad de partículas que contiene el aire que se introduzca en el esterilizador y en varios puntos en el interior de la cámara, cuando los ventiladores están en operación. Si se desea, estas pruebas pueden realizarse a las temperaturas de operación. Una alta cantidad de partículas puede ser causada por filtros rotos, sucios, o una vibración excesiva de los ventiladores, también por derramamiento de materiales o una inadecuada práctica de sanitización. Sólo una clase 100 de aire podrá entrar al horno. Una clase 100,000 en aire ha sido citada como condición máxima para el aire circulante en el esterilizador. La clasificación del aire está definida en base al máximo número de partículas por pie cúbico de aire, de 5 micras o mayores.

CALIFICACION DE LA INSTALACION.

Se lleva a cabo con el objeto de comparar el equipo contra sus especificaciones de manufactura, para confirmar que el esterilizador está funcionando apropiadamente. Todo el aparato, equipo auxiliar y sistemas de medición deberán ser comparados contra las recomendaciones del fabricante, tomando en cuenta los arreglos y modificaciones hechos a la unidad. Toda la información acerca del esterilizador, incluyendo orden de compra, cotizaciones, etc., deben formar parte del archivo de documentación. Se debe contar con esquemas de todos los servicios que utiliza el equipo para confirmar que todas las conexiones y

especificaciones están dentro de los límites de diseño y que cumplen los códigos estatales, códigos locales, y con las prácticas correctas de manufactura. Los documentos de la calificación de la instalación deberán ser revisados y aprobados por las personas designadas como responsables .

La siguiente información forma parte de la calificación de la instalación.

A . REGISTROS: Copias o referencias de la siguiente información:

Cotización y especificaciones del fabricante, órdenes de compra, número de modelo de la unidad y número de serie, Procedimiento Estándar de Operación , programa de mantenimiento preventivo, procedimiento de sanitización, procedimiento de calibración y todos los planos pertenecientes a la unidad.

B . INFORMACION ESTRUCTURAL. Comprobar dimensiones, planos, ubicación dentro de la planta, instalación en el área, sistema aislante, sellos e inspección general.

C . SISTEMAS. Se debe contar con bitácoras para mantener al día la siguiente información para cada una de las partes, donde se aplique:

1 . ELECTRICO. Debe estar de acuerdo a la C.F.E., con identificación apropiada, interruptores de seguridad, especificaciones de la instalación, incluyendo voltaje, amperaje, fases, calibre de los cables y tipo.

2 . SUMINISTRO DE AIRE. Identificación de la fuente , tamaño de los ductos , material de construcción y clasificación del aire (tal como Federal Standard 209B) .

3 . VENTILACION. El desfogue del horno debe dar a un área apropiada, previniendo el retorno del flujo.

4 . AGUA DE ENFRIAMIENTO. Identificar la fuente, diámetro de la tubería

y material, tipo y, tamaño de los tubos de los serpentines de enfriamiento.

D . EMPAQUES DE LAS PUERTAS. Comprobar integridad de los empaques y los materiales de construcción.

E . INSTRUMENTOS CRITICOS. Identificar todos los sistemas de control y reportes de la operación de la unidad, incluyendo temperatura, tiempos del ciclo, presión, velocidad de la banda de transporte y flujo del aire. Anotar el número de serie, número de identificación del fabricante, intervalo de operación del instrumento y registros de calibración.

F . INSTRUMENTOS NO CRITICOS. Comprobar también los instrumentos no críticos para la operación de la unidad, como pueden ser los indicadores de luz y alarmas. Cuando proceda, anotar número de serie, número de identificación del fabricante, intervalo de operación de los instrumentos y registros de calibración.

G . DISPERSORES. Comprobar la integridad de todos los dispersores, asegurándose de que no estén dañados o inhabilitados.

H . RESISTENCIAS . Sobre ellas se debe tener la siguiente información: Número, el modelo del fabricante, voltaje, amperaje y wattaje.

I . LUBRICANTES. Certificar que no sean contaminantes potenciales y que sean adecuados.

J . VENTILADORES. Deben estar firmemente colocados, la jaula de ardilla en su lugar, correctamente balanceada, con una distancia apropiada entre las aspas y deberá tener una banda de transmisión adecuada.

K . FILTROS. Todos los filtros usados dentro del sistema deberán estar registrados e incluirán la identificación , el tipo, el tamaño, la frecuencia de cambio, su capacidad filtrante , la velocidad del flujo,

los límites de temperatura y las pruebas del laboratorio requeridas de acuerdo al Procedimiento Estándar de Operación. Los filtros deben ser probados periódicamente para verificar su integridad llevando a cabo la prueba de burbuja o prueba similar.

Al aire se le podrá cuantificar el número de partículas para certificar que los filtros están dentro de especificaciones, que no tengan fugas y que estén perfectamente instalados .

CALIFICACION DE LA OPERACION.

Después de que ha sido comprobada la adecuada instalación del equipo , es necesario determinar que el esterilizador trabaje de acuerdo a las especificaciones. Los componentes del sistema deberán satisfacer los intervalos de operación como lo determinan las especificaciones del fabricante . El esterilizador debe ser operado en repetidas ocasiones para confirmar que funciona correctamente y que su comportamiento es reproducible.

Los documentos de calificación operacional deberán ser revisados, firmados por el personal responsable y archivados en la carpeta de validación del equipo. Cada uno de los siguientes componentes debe ser identificado y registrado para determinar su correcto funcionamiento.

A . CONTROLES DE TEMPERATURA. Los controladores de temperatura, gráficas y sensores del equipo de proceso para ser validados deberán ser calibrados antes que la unidad pueda ser operada con confianza. Las unidades son generalmente calibradas al tiempo de la instalación por el proveedor o el usuario y deberán recalibrarse a intervalos periódicos. A menudo, las unidades controladas electrónicamente se calibran únicamente por métodos electrónicos, tales como la comprobación del voltaje o las lecturas de resistencia en puntos específicos. Es también

esencial comprobar las temperaturas reales en varios puntos internos del equipo, como se describe más adelante.

B . TIEMPO DEL CICLO. Determinar y en su caso corregir la relación entre el tiempo que marca la gráfica y el tiempo real.

C . SEGUROS EN LAS PUERTAS. Si la unidad esta equipada con doble puerta, el seguro deberá operar de tal forma que la puerta que da al área aséptica no pueda ser abierta cuando esté abierta la puerta del área no aséptica y tampoco mientras se esté llevando a cabo el proceso, sino hasta que éste haya concluido .

D . RESISTENCIAS. Todas deberán estar funcionando, es conveniente que se registren continuamente con amperímetros, de tal manera que cuando una se abra pueda ser detectada inmediatamente. Una falla del elemento podría causar un cambio severo en la efectividad del proceso.

E . VENTILADORES. El ajuste apropiado de éstos es muy importante para la efectividad de la circulación del aire dentro del esterilizador. El ventilador deberá entregar el aire a una velocidad de acuerdo a las especificaciones del fabricante, en ocasiones es posible ajustar la velocidad del ventilador. Es esencial que la aspas estén rotando en la dirección apropiada.

F. SERPENTIN DE ENFRIAMIENTO.

Para permitir un ciclo de enfriamiento rápido, el aire frecuentemente se circula a través de un serpentín de enfriamiento. Se debe registrar el tipo y tamaño de los serpentines, así como la temperatura del agua, tanto a la entrada como a la salida, para poder conocer que tan efectivo es el enfriamiento.

G. BANDAS TRANSPORTADORAS. La velocidad de las bandas es un parámetro de operación crítico tanto en esterilizadores de flama como en túneles de aire caliente. Para la calibración adecuada del sistema se

recomienda graficar, en forma continua la velocidad de la banda transportadora en equipos que tengan ajuste de velocidad.

La velocidad de la banda y la temperatura de operación están interrelacionadas en este tipo de unidades, así pues, una velocidad de transporte baja a una temperatura baja puede producir el mismo efecto que una velocidad alta a una temperatura alta.

EQUIPO Y MATERIALES PARA LA MEDICION DE TEMPERATURAS.

El equipo y los aparatos empleados para realizar los estudios de validación debe estar certificado. Todos los equipos deberán calibrarse apropiadamente y debe existir un manual de operación para el uso correcto del instrumento, además de una bitácora para llevar el registro de las calibraciones. El equipo utilizado para las pruebas de validación de los procesos por calor seco puede incluir lo siguiente:

A . TERMOPARES. Son utilizados para medir temperaturas. La selección del tipo de termopar y el aislante es dependiente de la temperatura de operación y la exactitud requerida. Para los procesos de esterilización o despirogendo por calor seco se utilizan dos tipos de termopares, el tipo T (cobre y constantan) y el tipo J (hierro y constantan). El aislante que se utiliza normalmente para altas temperaturas de trabajo es Kapton-H de Du Pont. Este aislante tiene una temperatura máxima de 350° C , suficiente para usarse en temperaturas de despirogonado .

B . TERMOMETROS DE RESISTENCIA (RTD). Se usan para calibrar el equipo de medición de temperaturas utilizado durante las pruebas de validación. El RTD puede utilizarse con una exactitud de un centésimo de grado Celsius, comparado con los termopares, los cuales tienen un nivel de sensibilidad de una décima de grado Celsius. El RTD es más estable que el termopar y es más fácil de estandarizar para ser utilizado adecuadamente durante la validación de un proceso.

C. REGISTRADORES MULTIPUNTO. Se usan generalmente durante los estudios de validación para graficar las temperaturas sensadas por los termopares. Los registradores toman el voltaje del termopar y lo convierten en un valor numérico. Los termopares deberán ser comparados contra el RTD más sensible y calibrados para tener la certeza de que toman la temperatura correcta. Esto se hace por corrección manual del cero y su correspondiente ajuste en el registrador ó por el uso de calibración automática, integrada en algunos modelos. La calibración debe realizarse en el sistema del registrador/termopares antes y después de la corrida de validación, como se detalla en la sección siguiente.

CALIBRACION DEL EQUIPO DE VALIDACION. Todo el equipo e instrumental utilizado para la validación del equipo de producción debe ser calibrado, el lapso de tiempo entre cada calibración se determina por la estabilidad del instrumento y la exactitud requerida. Todos los instrumentos calibrados deben numerarse y registrarse. El reporte de calibración debe incluir la fecha de la calibración, quién calibró y la fecha de la siguiente calibración. Se debe tener una bitácora para cada instrumento, incluyendo las referencias histórico-cronológicas con cualquier reparación hecha a la unidad, reportes de calibración, ajustes o reparaciones llevadas a cabo y una lista de los instrumentos utilizados para calibrarlo, (tales como patrones de resistencia, de voltaje, etc.), identificados con sus números de serie. Los Procedimientos Estándares de Operación deberán estar escritos y aprobados para la calibración de cada uno de los instrumentos.

Se debe tener un archivo maestro de todas las calibraciones por fecha, por equipo, en forma tal que permita su fácil acceso cuando sea requerido. Como se mencionó previamente, la calibración de un sistema de medición de temperaturas contra un RTD es un paso crítico y debe

llevarse a cabo antes y después de las corridas de validación. En la precalibración se certifica que todos los termopares estén trabajando adecuadamente y se compara cada lectura de temperatura contra un estándar conocido. Los termopares se comprueban contra el RTD después de las corridas en una post-calibración para asegurar que estuvieron operando apropiadamente y por lo tanto que los registros de temperatura son válidos.

Para realizar la calibración se requiere de los termopares, un RTD, un monitor, una impresora y dos ó tres baños de temperatura constante. El RTD y los termopares se colocan simultáneamente en uno de los baños. Los datos leídos son comparados contra los del RTD, las correcciones se realizan en el registrador multipunto hasta que todas las lecturas de los termopares estén dentro de un ± 0.5 °C de las lecturas de temperatura del RTD.

El registrador es utilizado para reportar estas lecturas de temperatura y las temperaturas del RTD deben quedar impresas. Los termopares serán transferidos al otro baño sin ajuste alguno al registrador, las lecturas de temperatura para los termopares deberán estar dentro del intervalo de temperatura designada. Si las lecturas de temperatura están fuera de este intervalo, se hará un ajuste y la primera secuencia se repite. Los datos se clasifican como precalibración. La misma secuencia se ejecutará después de completar las corridas de validación antes de cualquier ajuste al registrador. Cualquier termopar que esté fuera del intervalo en la postcalibración no será válido. Esta postcalibración puede ser realizada después de cualquier número de corridas de validación. Todas estas pruebas de validación deben de repetirse si los termopares fallan en la postcalibración. Se debe disponer de un Procedimiento Estándar de Operación para la calibración de termopares .

Los reportes de pre. y postcalibración deben guardarse en el archivo de corridas de validación.

DESARROLLO DEL CICLO.

Un proceso por calor seco puede tener diferentes objetivos, el propósito del ciclo lo dicta el protocolo de validación, en algunos casos se desea la esterilización y en otros la inactivación de la endotoxina, (despirogenización).

Cuando el objetivo es la esterilización únicamente, se cuenta con dos métodos para la validación y dependen de la resistencia del producto a esterilizar. Para productos termolábiles se puede encontrar la probabilidad de supervivencia de una biocarga normal y requieren ciclos de esterilización estrictamente controlados, dado que un proceso abajo de las condiciones requeridas proporcionan un producto no estéril, en el caso contrario, una sobreexposición puede causar degradación al producto. El resultado de los estudios proporcionará la cantidad mínima de calor seco requerido para asegurar que la probabilidad de obtener un recipiente contaminado sea menor de 1 en un millón.

El tiempo para la esterilización y las temperaturas necesarias pueden describirse por el valor de F con una temperatura de referencia de 170 °C y asumiendo un valor de Z de 20°C

En el caso de materiales estables al calor se puede utilizar el método de sobrematanza y se utilizan temperaturas de 170 °C en un tiempo no menor de 2 hs.

Cuando se requiere despirogenizar las condiciones son más drásticas ya que se trata de inactivar la endotoxina y se utiliza como referencia la endotoxina de la *Escherichia coli* cuantificada, que es colocada en diferentes lugares de la carga incluyendo el lugar más frío de ésta. La concentración de la endotoxina a utilizar estará basada en la pirocarga

contenida en los componentes y agregando un factor de seguridad. Al finalizar el ciclo se busca la presencia de la endotoxina residual por la prueba en conejos o con el lisado de amebocito limulus, (LAL).

La endotoxina (lipopolisacárido), tiene un valor de Z de 46.4 °C a 250 C y un valor de D de 4.99 min, la temperatura de referencia es de 250 C con un tiempo de exposición mínimo de 30 min.

En el desarrollo del ciclo, todos los parámetros deben ser definidos, esto incluye la biocarga, la pirocarga, el tipo y número de microorganismos en el desafío biológico, las temperaturas, el tiempo del ciclo, el valor mínimo de F_M , los perfiles de temperatura de penetración y la velocidad de la banda para esterilizadores de túnel o de flama. Los estudios deben imitar los procesos actuales de producción. El desarrollo del ciclo debe incluir estudios de biocarga para determinar la carga microbiana previa a la esterilización. Los estudios de laboratorio definirán los valores de D.

Los microorganismos utilizados como indicador biológico deben tener resistencias características, (valores de D y Z documentados y apropiados para los ciclos de esterilización ó despirogenado).

La relación de letalidad a la temperatura es expresado en el valor de Z. Este valor define el número de grados que son requeridos para un cambio en el valor de D en un factor de 10. El dato de biocarga y los valores Z y D se utilizan para calcular el valor mínimo de F_M requerido.

Los materiales estables al calor tales como el vidrio y el acero inoxidable no son afectados por temperaturas de operación altas y la configuración de las cargas es menos restringida que con productos lábiles al calor.

PROTOCOLO DE VALIDACION.

Antes de llevar a cabo el trabajo de validación se debe contar con un

protocolo aprobado por la persona responsable del área, en el cual deben incluir las pruebas específicas que se van a realizar y su correspondiente criterio de aceptación. El protocolo deberá ser escrito considerando el proceso y el equipo específico.

Si se necesitan cambios después de que el protocolo ha sido aprobado, se pueden adicionar en un suplemento de protocolo, que debe ser aprobado por las partes involucradas.

Los siguientes puntos deben estar incluidos en un protocolo de validación.

1°. **Objetivo:** Se debe dar una explicación clara que defina el objetivo de la validación.

2. **Responsabilidad:** Se deben identificar los departamentos involucrados y asignar sus responsabilidades en el proyecto de validación, para asegurar que cada grupo entiende el objetivo y su parte en el logro del mismo.

3. **Procedimientos Estándares de Operación.**

4. **Programa de prueba:** Define las pruebas que serán realizadas durante los estudios de cámara vacía, cámara llena, temperaturas de penetración, equipo utilizado para realizar estas pruebas, el tipo y la cantidad de los microorganismos de prueba y de endotoxina para el desafío biológico y su localización dentro de la cámara.

5. **Criterios de aceptación:** Debe existir un criterio de aceptación para cada prueba con límites previamente establecidos. Estos límites pueden ser tomados de las normas de la compañía, de una cita bibliográfica o de normas proporcionadas por Organismos Reguladores, (S.S.A., I.M.S.S.).

VALIDACION .

El estudio de validación puede empezar una vez que el equipo haya

cumplido con la prueba de calificación y se haya aprobado el protocolo de validación. La validación en este caso incluye estudios de distribución de calor con cámara vacía, estudios de distribución de calor con cámara llena y estudios de penetración de calor. Se requiere la determinación de la biocarga y pirocarga en varias corridas, durante los estudios de distribución de calor con cámara llena, utilizando indicadores biológicos y endotoxinas.

A . PRUEBAS CON CAMARA VACIA. Por medio de ésta prueba se conocen las características termodinámicas del esterilizador y se representan en un perfil de distribución de temperaturas. Este perfil sirve para localizar las áreas frías ó calientes en la cámara del horno y los datos se obtienen por la colocación de cuando menos 10 termopares distribuidos en el esterilizador de túnel o en el horno, en el caso de los esterilizadores de flama, los termopares se colocan a nivel de las ampollitas. Las puntas de los termopares no deben tener contacto con ninguna superficie sólida (paredes, techos, varillas de soporte, etc.). Se debe anotar todos los ajustes de control, incluyendo cualquier variable que puede afectar el ciclo, tal como la temperatura seleccionada, distribución de los elementos de calentamiento, tiempo fijado para el ciclo, velocidad de los ventiladores, velocidad de la banda transportadora en el caso de los hornos de túnel ó de flama, controlador de la temperatura, etc.

Uno de los termopares debe colocarse junto al sensor que controla la temperatura , para confirmar que la señal está siendo captada correctamente y que la demanda de calor es transmitida en forma adecuada al control de las resistencias. Es importante anotar el tiempo de ascenso (El tiempo para alcanzar la temperatura seleccionada) y el tiempo de enfriamiento, dado que una variación anormal puede indicar mal

funcionamiento eléctrico o mecánico en el horno.

Es importante vigilar estrechamente la temperatura en la zona de esterilización, puesto que las variaciones de calor son más críticas en éste lugar. En caso de que el perfil de distribución de temperatura en cámara vacía no sea aceptable, deben realizarse ajustes o modificaciones al esterilizador y repetir los estudios hasta obtener los datos adecuados. Si el perfil de temperatura con cámara vacía es aceptable, se repetirán 3 corridas consecutivas para demostrar la reproducibilidad del ciclo en el esterilizador.

Es importante que se cuente con un diagrama detallado de la colocación de los termopares el cual debe anexarse junto con los datos obtenidos de los estudios de cámara vacía. Estos datos servirán cuando sea necesaria una revalidación. Además el archivo debe contener:

Todas las gráficas obtenidas.

Registros de las temperaturas.

Tiempos de ascenso.

Tiempo del proceso.

Tiempos de enfriamiento.

Cálculos

Observaciones pertenecientes a las corridas.

B . PRUEBAS CON CAMARA LLENA.

Tienen como objetivo determinar el efecto de la carga sobre la distribución de la temperatura en la cámara y al igual que en las pruebas con cámara vacía, los estudios de validación teniendo la cámara parcial o totalmente llena debe incluir pruebas de distribución de calor con un termopar colocado junto al sensor de la temperatura que controle el calor.

Los termopares deben colocarse en los mismos lugares utilizados para las

pruebas de distribución de calor con cámara vacía. Los extremos de los termopares no deben estar en contacto con superficies sólidas.

El archivo de datos debe incluir aparte de los de la cámara vacía los siguientes:

Tipo de carga.

Cantidad.

Configuración de la carga.

C. ESTUDIOS DE PENETRACION DE CALOR

De preferencia deben ser realizados simultáneamente con los estudios de distribución de calor. Dado que los materiales se calientan a diferentes velocidades a partir del aire que los rodea, la velocidad de penetración de calor depende del tipo de material, de la carga, de su configuración dentro de la cámara y de la uniformidad de distribución de las temperaturas. El dato de penetración de calor se obtiene por la colocación de los termopares dentro de los contenedores, componentes o artículos.

El tiempo de ascenso de temperatura de los termopares en las pruebas de distribución del calor describe el tiempo requerido para que el aire alcance la temperatura seleccionada en el control, partiendo de la temperatura ambiente. El tiempo de ascenso de la temperatura de los termopares en el estudio de penetración de calor, proporciona el tiempo requerido para que la carga alcance la temperatura deseada. Siempre existe un retraso en el calentamiento de los componentes de la carga para alcanzar la temperatura requerida después de que el aire alcanza esa temperatura. El retraso del calentamiento es definido como la diferencia entre el tiempo requerido por el producto para alcanzar la temperatura deseada menos el tiempo requerido para que el aire alcance esta misma temperatura. Esta diferencia puede acentuarse durante una

corrida cuando se utiliza el equipo a su capacidad máxima de carga del producto.

La temperatura del producto, detectada en los termopares de penetración, ascenderá más lentamente, dado que la conducción y convección es más baja en una masa sólida, (producto), que en un gas, (aire).

Frecuentemente se coloca el control de temperatura en el punto más frío de la carga, con el fin de asegurar que la totalidad de la carga reciba una temperatura adecuada por el tiempo requerido.

No es posible hacer correlaciones entre esterilizadores de flama, de túnel y hornos, debido a que en los dos primeros el producto se calienta a altas temperaturas durante un corto periodo de tiempo, comparado con los hornos que tienen periodos más largos y temperaturas más bajas.

Para realizar la validación se deben seleccionar los envases para las pruebas, en base a diferentes características como son: tamaño, tipo de material, cantidad, geometría de la carga dentro del horno y dado que es imposible probar todas las posibilidades, se deben hacer los estudios con las cargas representativas incluyendo los envases de tamaños extremos y los que opongan más resistencia para ser penetrados por el calor, así como con exceso de carga o con empaquetamiento compacto.

Es necesario un diagrama exacto y detallado de la localización de los termopares en cada corrida para ubicar en dónde están las áreas frías y calientes dentro de cada carga específica. Las áreas calientes son importantes para aquellos productos que puedan llegar a descomponerse por un exceso de calor. Las áreas frías pueden llegar a producir problemas de esterilidad o despirogenación.

El aire tiene una conductividad y convectividad pobres, de ahí que las áreas frías y calientes pueden variar para cada tipo de carga.

Los esterilizadores de túnel ó de flama son muy sensibles a los cambios

de configuración de la carga debido al corto tiempo de ascenso de la temperatura, al corto período de esterilización, a variaciones en el tipo de material de envase y a la velocidad de la banda transportadora. Si el perfil de temperatura resultó adecuado al protocolo original, se repite la corrida tres veces en forma consecutiva para demostrar la reproducibilidad del ciclo con una determinada carga del esterilizador. Las corridas deben verificar que en la porción más fría de la carga exista un valor de F_w adecuado para el proceso, ya sea de esterilización o despirogenizado.

ESTUDIOS DE DESAFIO BIOLÓGICO

En éstos estudios el objetivo es retar al ciclo de esterilización o despirogenación colocando cantidades conocidas de microorganismos o endotoxina en la cámara, incluyendo los lugares más fríos de ésta, (valores de F_w mínimos), y comprobar que las condiciones establecidas son las adecuadas para destruir a las endotoxinas o matar a los microorganismos. A los artículos inoculados con esporas se les hace la prueba de esterilidad para ver si existe o no desarrollo, a los artículos inoculados con endotoxinas, se les verifica si tienen o no actividad pirogénica con la prueba de limulus, (LAL), o en conejos.

Siempre es necesario comparar con controles positivos y negativos.

Los estudios se hacen usando bioindicadores tales como la suspensión de *Bacillus subtilis* a una concentración de 10^4 en los ciclos de esterilización y la endotoxina de *Escherichia coli* para los ciclos de despirogenizado en concentraciones que van de 100 a 10,000 nanogramos (500 a 50,000 unidades de endotoxina). El protocolo de validación debe indicar las unidades de endotoxina a utilizar.

Estos estudios de reto se pueden hacer separada o simultáneamente con los estudios de penetración del calor. Si son simultáneos se colocan

los desafíos junto a los envases que contienen los termopares.

En el caso de que aún exista esporas vivas ó endotoxina residual, se cuantifican y analizan con respecto al valor de F_w obtenido.

Los resultados del estudio indicarán si los procesos de esterilización y/o despirogenado se cumplen.

REPORTE DE VALIDACION

Una vez realizados los estudios del horno con la cámara llena y vacía y concluidos los estudios de biodesafío, se deben analizar los datos recabados para comprobar que se ha cumplido exactamente con el protocolo de validación.

En el reporte de validación se debe registrar la siguiente información:

- a) Cumplimiento del protocolo. Un informe que indique si los criterios de aceptación incluidos en el protocolo se cumplieron.
- b) Resumen de los datos. Un resumen de datos obtenidos durante las corridas de validación, incluyendo el tiempo de ascenso, descenso, valores de F_w mínimo y máximo y su localización en la cámara. Los datos originales de las corridas se incluyen en el archivo central.
- c) Desviaciones. Se deben explicar las excepciones al reporte de validación, si no se realiza alguna prueba se debe justificar, cualquier desviación a los resultados esperados se debe analizar y discutir. Si existió alguna modificación al protocolo original, debe justificarse.
- d) Diagramas. Se deben incluir especificaciones al equipo, diagramas detallados representando la distribución de la carga, colocación de los termopares y bioindicadores.

MANTENIMIENTO RUTINARIO DEL EQUIPO.

Una vez que el equipo y el proceso ha sido validado es necesario mantener al equipo en condiciones óptimas de trabajo de tal manera que siempre se tenga la seguridad de que cumple su función de esterilización

o despirogenización, dentro de los parámetros establecidos. Para esto se utilizan varios programas tales como el de sanitización, mantenimiento preventivo, control de cualquier cambio o reparación y el de revalidación.

El programa de sanitización describe el método de limpieza utilizado para el equipo de acuerdo a los Procedimientos Estándares de Operación en donde debe estar indicado quién debe limpiar, qué y cómo debe limpiar, cuándo lo debe hacer, describir los materiales de limpieza y la manera más adecuada para no dejar residuos.

El programa de mantenimiento preventivo como su nombre lo indica, pretende evitar los desagradables rompimientos en el flujo de la producción comprobando el funcionamiento adecuado del equipo, revisando los sistemas tales como filtros, resistencias, calibración de relojes y registradores, empaques en las puertas, etc.

Es deseable buscar la ayuda del fabricante del equipo y aunado al historial de operación de la unidad, formular el programa más adecuado. Cualquier ajuste que se le haga a la unidad, debe ser reportado en la bitácora de mantenimiento preventivo.

Cuando sea necesario un cambio que ponga en peligro la confiabilidad de la validación, éste cambio debe ser conocido por medio de un formato en el que conste el tipo de modificación o reparación que se requiere, las razones para éste cambio y los resultados que se esperan. Este formato será revisado por el Comité de Validación, Aseguramiento de Calidad, Ingeniería y Fabricación, quienes evaluarán la modificación y verán si no repercute en la confiabilidad de la Validación y si es necesaria una revalidación parcial o total del equipo.

Es adecuado tener una lista con las reparaciones que pueden realizarse sin la aprobación inicial del comité, aunque ésta modificación debe

anotarse en la bitácora y en la forma de control de cambios para asegurar que el archivo se encuentre actualizado.

Si se requieren estudios de revalidación del equipo después de un cambio o reparación mayor o a un intervalo periódico predeterminado, ésta revalidación generalmente no incluye todos los estudios originales de validación, pero debe incluir algunos datos con carga igual a los validados anteriormente, incluyendo las cargas críticas.

ARCHIVO DE DOCUMENTACION

Toda la información generada por el trabajo de validación debe estar accesible, para ello debe haber un archivo central permanente, el cual debe incluir lo siguiente:

- 1.- Calificaciones: Toda la información de la calificación del equipo y/o proceso, incluyendo los pasos realizados para la certificación del equipo, datos originales, resultados y conclusiones. Todos los reportes deben estar con fecha y firma de aprobación del o los responsables.
- 2.- Protocolo: El protocolo experimental debe encontrarse en éste archivo.
- 3.- Estudios de la cámara: Deben estar aquí los datos originales, resultados, cálculos y conclusiones de los estudios hechos con cámara vacía, cámara cargada y estudios de biodesafío, también la hoja de corrida, que es un formato que se llena en el momento de la corrida y contiene datos tales como diagramas de carga conteniendo la descripción de la colocación de la carga, termopares y bioindicadores, calibraciones, impresiones originales de temperatura, gráficas de temperatura, calibración de los bioindicadores, resultados de prueba y hojas de cálculo para los valores de F_m .
- 4.- Reporte de Validación: Es el documento formal disponible para revisión por los organismos reguladores y contiene los datos de los

estudios con cámara vacía, con cámara cargada y biodesafío.

5.- Monitoreo rutinario: Cualquier cambio post-validación debe ser del conocimiento del comité de validación y anotado en el control de cambios "1.4.4.2.10".

III. PARTE EXPERIMENTAL

CALIFICACION DE LA INSTALACION.

A.- REGISTROS.

Se creó un archivo de documentación, al cual consta, entre otros, de los siguientes datos:

DESCRIPCION DEL EQUIPO

NOMBRE: Horno esterilizador y despirogenizador de calor seco por convección forzada por lote marca CAISA. (Figuras 8, 9 y 10)

DEPARTAMENTO USUARIO: Soluciones Estériles.

LOCALIZACION: Planta alta, sección de Producción, Departamento de Soluciones Estériles.

FABRICANTE DEL EQUIPO: Constructora de Aparatos Industriales S.A.

MODELO: ET-354-L

NUMERO DE SERIE: 731068

CARRO CHAROLERO.

Fabricado por: CHEMCO DE MEXICO, S.A.

Función: Sirve para colocar en él las charolas perforadas, permitiendo la circulación del aire caliente de una manera homogénea.

Modelo: 344 (Figura 11)

- Se actualizaron los siguientes procedimientos y programas:

Procedimiento Estándar de Operación.

Procedimiento Estándar de Limpieza.

Procedimiento Estándar de Sanitización.

Programa de Calibración del graficador de temperatura del Horno.

Programa de Mantenimiento Preventivo del Horno.

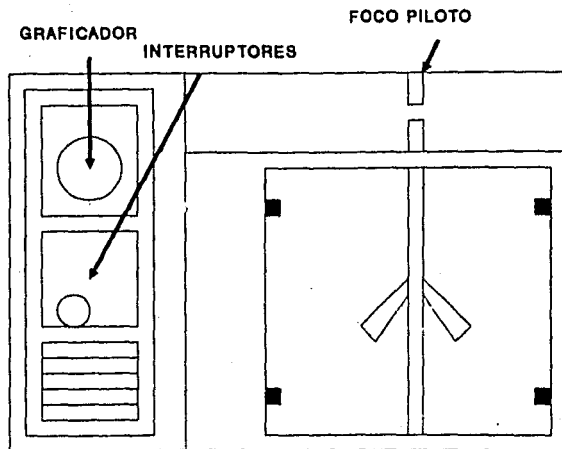


FIGURA 8 HORNO CAISA VISTA FRONTAL.

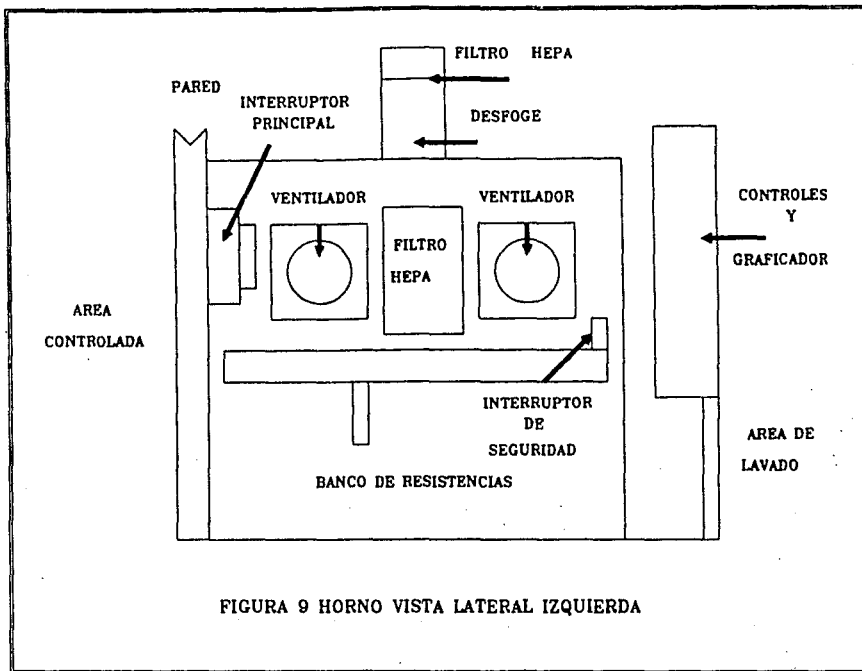


FIGURA 9 HORNO VISTA LATERAL IZQUIERDA

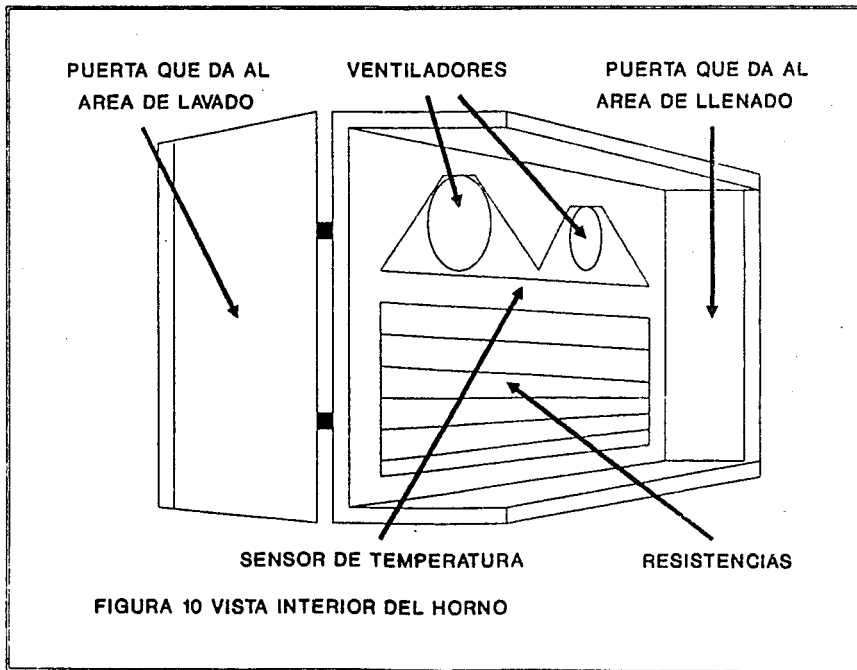
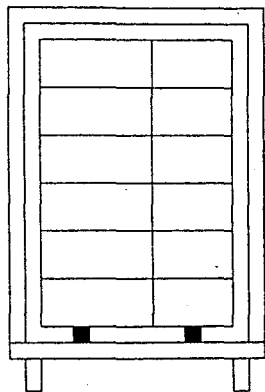
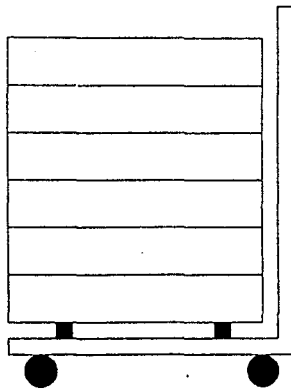


FIGURA 10 VISTA INTERIOR DEL HORNO



CARRO CHAROLERO

VISTA FRONTAL



CARRO CHAROLERO

VISTA LATERAL

FIGURA 11

- Debido a que se realizaron varias modificaciones al horno para adecuarlo a las exigencias actuales, fué necesario levantar nuevos planos, las modificaciones fueron a todos niveles y se hablará de ellas posteriormente.

B.- INFORMACION ESTRUCTURAL.

Al levantar los planos se checkaron dimensiones, se revisó el sistema aislante y se selló una sección del frente que estaba deteriorada.

C.- SISTEMAS.

- ELECTRICO.

Se revisó el sistema eléctrico.

Se verificaron los sistemas de seguridad.

Se colocaron algunos letreros de identificación que faltaban.

Se verificó el voltaje de las líneas y se ajustó en la sub-estación a que estuviera entre 217-220 volts.

Se identificaron las fases de corriente y tierra.

Se verificó que el calibre de los cables fuera el adecuado.

- SUMINISTRO DE AIRE.

Se identificó la fuente del aire, éste es filtrado por filtros HEPA. El tamaño de los filtros es 12' X 12' X 5' 7/8 y 10' X 10' X 5' 7/8.

El tamaño de la ductería es de 10' X 10'.

La clasificación del aire es clase 100.

- VENTILACION.

El desfogé del horno da al exterior, en ésta parte se hizo una modificación que consistió en colocar un cierre por gravedad, el cual

abre cuando el aire caliente sale y a su vez impide la entrada de partículas gruesas o agua.

También se colocó un filtro HEPA que impide que el aire en un momento dado retorne y entre sucio. Adicionalmente se colocó al comienzo del ducto y cerca de la cámara un sistema de desfoge para abrir o cerrar el tiro del horno en forma automática.

- SISTEMA DE DESFOGE.

Fabricado por: HONEYWELL INC.

Número de Serie: 8920

Frecuencia de trabajo: 60 ciclos.

Función: Abre y cierra el tiro del horno en forma automática dependiendo de la temperatura registrada por el graficador.

Modelo Número: M436A

Equipo Original: No

Fecha de adquisición: Diciembre 89.

D.-EMPAQUES EN LAS PUERTAS.

Se realizó un cambio en los empaques, anteriormente eran de asbesto y fueron sustituidos por empaques de silicón.

E.- INSTRUMENTOS CRITICOS.

Se identificaron los sistemas de control, los reportes y gráficas fueron archivados en una bitácora.

SENSOR GRAFICADOR.

Fabricado por : THE PARTLOW CORPORATION.

No de Serie: 665KY 10

Frecuencia de Trabajo: 60 ciclos.

Voltaje: 220 volts.

Función: Grafica la temperatura sensada en un punto en el interior de la cámara, para que en base a la temperatura fijada y a la temperatura sensada, suministre la señal a las resistencias.

Modelo : RFL

Equipo original: Si.

CONTROLADOR DE TIEMPO.

Fabricado por: SIEMENS.

Número de serie: 8050013.

Frecuencia de trabajo: 60 ciclos.

Función: Controla el tiempo de proceso, desconectando al término de éste, las resistencias y manteniendo en funcionamiento los ventiladores para el enfriamiento de la carga.

Modelo: TPR30 J4-2.

Equipo original: No

Fecha de adquisición: Diciembre 89.

F.- INSTRUMENTOS NO CRITICOS.

Se comprobó el buen funcionamiento de los focos piloto que señalan que una de las dos puertas está abierta, impidiendo con esto, que se abran al mismo tiempo las dos puertas. Estos focos piloto también fueron adicionados al horno y no venían en el equipo original.

G.- DISPERSORES.

Se comprobó la integridad de todos ellos.

Equipo original: Si

H.- RESISTENCIAS.

Capacidad calórica: 17 KW.

Cantidad.: 6 unidades.

Material: NICHROMEEL.

Tamaño: 18 mts c/u.

Resistencia: .52 ohms/metro.

Equipo original: Si

I.- LUBRICANTES.

Se utilizó la marca KOLUB 7B de ROMEX para altas temperaturas.

J.- VENTILADORES.

Se revisó que estuvieran bien colocados, que la jaula de ardilla estuviera en su lugar y bien balanceada para evitar vibraciones.

Es importante que los ventiladores estén girando en la dirección correcta, si ésto no es así, cambiar la polaridad a la corriente.

Fabricados por: ASEA.

Número de Serie: #1 141609 #2 141604

Frecuencia de trabajo: 60 ciclos.

KF : 0.25

Función: Proveer la circulación forzada de aire con el fin de homogeneizar las temperaturas de la cámara.

Modelo: MM 71A 4 Clase E

Velocidad de descarga # 1 1340 RPM # 2 1460 RPM.

Voltaje: 220 volts.

Equipo Original: Si

K.- FILTROS.

Fueron colocados dos filtros, uno a la entrada del aire y otro a la salida con el fin de evitar retornos de aire que pudieran introducir partículas contaminantes al horno.

Los filtros están debidamente identificados, registrados y con el procedimiento de operación para su verificación y cambio.

- FILTRO DE ENTRADA

Tipo HEPA.

Tamaño 12' X 12' X 5 7/8 '.

Frecuencia de cambio: 4 meses.

Capacidad Filtrante: 99.998

Velocidad de flujo: 0.90 m/seg.

Equipo original: No

Fecha de adquisición: Diciembre 89.

- FILTRO DE SALIDA.

Tipo HEPA.

Tamaño 10' X 10' X 5 7/8 '.

Capacidad filtrante: 99.998

Velocidad de flujo: 0.90 m/seg.

Equipo original: No

Fecha de adquisición: Diciembre 89.

PROTOCOLO DE VALIDACION.

ESTERILIZACION Y DESPIROGENADO CON AIRE CALIENTE EN UN HORNO

1.0 INTRODUCCION:

Este protocolo provee un procedimiento para la validación de la esterilización y despirogenación por aire caliente y circulación forzada del horno CAISA.

2.0 RESPONSABILIDADES:

2.1 El personal de Validación es responsable del seguimiento de este procedimiento y sus tareas específicas incluyen lo siguiente.

- Seguimiento completo del protocolo, exactitud en las determinaciones y uso del equipo en la forma más idónea.
- Mantenimiento y calibración del equipo de validación.
- Descripción de las corridas de validación, en conjunto con el departamento de Soluciones Estériles.
- Realización de las corridas de validación, con operación del personal del Departamento de Soluciones Estériles, incluyendo el reporte.
- Revisión de los datos y aceptación, en su caso, de las corridas de validación.
- Preparación del reporte de validación.
- Coordinación de la revalidación.

2.2 Los departamentos de Mantenimiento y Dirección Técnica son responsables de:

- Calibración de la instrumentación del equipo de proceso en base a un programa de mantenimiento.
- Cumplimiento de las reparaciones o renovaciones antes de las corridas de validación.
- Llevar al día los reportes de la calibración o reparaciones hechas a cada una de las partes.

2.3 Las responsabilidades de Control de Calidad.

- Preparación y calibración de los indicadores biológicos, tiras de esporas y endotoxinas.
- Pruebas de los indicadores biológicos y reporte de resultados.

2.4 El Departamento de Soluciones Estériles, será responsable de lo siguiente.

- Proveer el horno cuando se acuerde con el grupo de validación.
- Proveer un operador del horno.
- Indicar la responsabilidad al personal supervisor.
- Proporcionar las características de la carga y descripciones pertinentes al grupo de validación.

3.0 PROGRAMA DE PRUEBAS DE VALIDACION.

3.1 Estudios de distribución de calor con horno vacío y lleno.

3.2 Estudios de penetración de calor con horno cargado.

3.3 Uso de un indicador biológico y una endotoxina apropiada.

4.0 DISTRIBUCION DE CALOR EN CAMARA VACIA.

4.1 El horno debe ser calificado por la medición de las temperaturas a través de la cámara vacía, por lo menos con 10 termopares durante un ciclo normal.

5.0 PATRON DE CARGA.

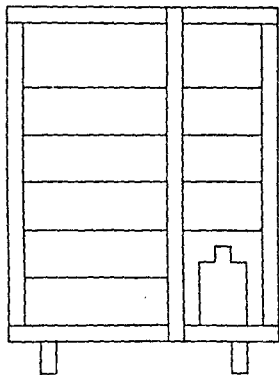
5.1 Se deben hacer 3 corridas para una configuración determinada para obtener un diagrama de la distribución del calor.

5.2 Se deben hacer 3 corridas con la configuración anterior para el estudio de penetración del calor y de desafíos biológicos.

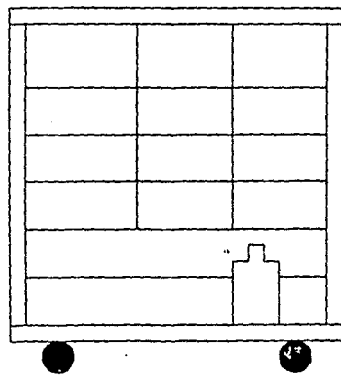
Los desafíos conteniendo endotoxina deben correrse con una configuración y carga máxima y colocados en los puntos fríos de la carga, figura 12.

6.0 DISTRIBUCION Y PENETRACION DEL CALOR EN LA CAMARA CON CARGA.

6.1 De acuerdo a los resultados de los estudios de distribución y de



CARRO CHAROLERO CARGADO
VISTA FRONTAL



CARRO CHAROLERO CARGADO
VISTA LATERAL DERECHA

FIGURA 12

penetración de calor en la cámara con carga, se debe establecer una configuración exacta, especificando el número y tamaño de los envases a ser despirogenados, equipo, recipientes, etc., de tal modo que la carga pueda estandarizarse.

Los termopares de distribución son colocados en los mismos lugares donde se obtuvieron los datos de la cámara vacía, figura 13 y 14.

Los termopares de penetración serán colocados dentro de las ampollitas o frascos contenidos en cajas metálicas de acero inoxidable perforadas, en aquellos lugares en que sea más difícil la penetración del calor.

Estos estudios serán repetidos tres veces por cada carga.

6.2 Como complemento al trabajo experimental se determinará la zona fría en la carga y la localización del F_m mínimo.

7.0 EVALUACION DE LOS RESULTADOS.

7.1 Los datos de la penetración de calor serán utilizados para establecer la reproducibilidad de la corrida. En general tres corridas son suficientes para conocer en base a los resultados, si los parámetros del horno y la configuración de la carga son satisfactorios para establecer la reproducibilidad de la operación y ver si el proceso es consistente y uniformemente letal.

7.2 Determinación de la reducción logarítmica de la endotoxina de Escherichia coli para probar la despirogenación de los contenedores.

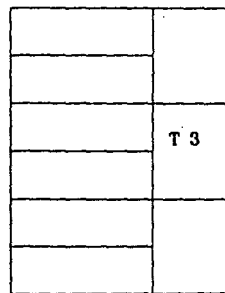
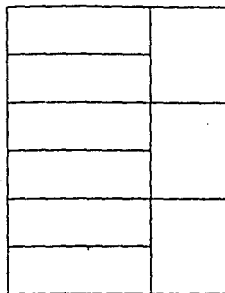
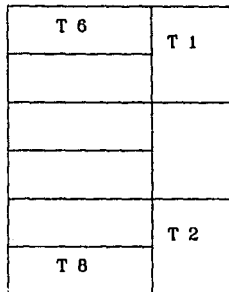
7.3 Los datos obtenidos en los estudios serán utilizados para definir los parámetros del proceso de esterilización-despirogenación para la configuración de la carga y deberá incluir la siguiente información.

- Un F_m mínimo de 30 minutos (250 °C) en la zona fría de la carga.
- Una configuración de carga definida incluyendo la identificación de todos los materiales involucrados.
- Un procedimiento de operación del horno mostrando todos los pasos y

DIAGRAMA DE DISTRIBUCION DE LOS TERMOPARES

NIVEL 1 VISTA SUPERIOR NIVEL 2 VISTA SUPERIOR NIVEL 3 VISTA SUPERIOR

HACIA EL AREA CONTROLADA

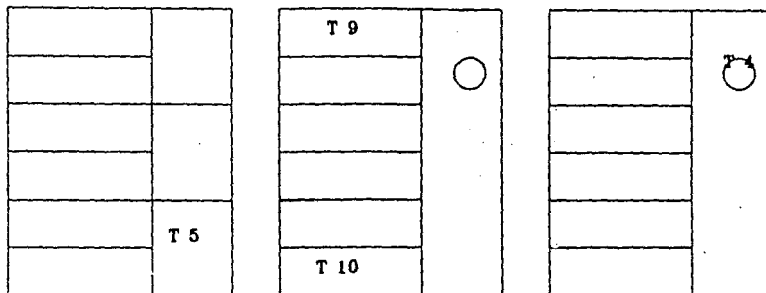


HACIA EL AREA DE LAVADO

EL TERMOPAR 7 ESTA COLOCADO JUNTO AL SENSOR DEL GRAFICADOR
FIGURA 13

DIAGRAMA DE DISTRIBUCION DE LOS TERMOPARES

NIVEL 4 VISTA SUPERIOR NIVEL 5 VISTA SUPERIOR NIVEL 6 VISTA SUPERIOR
HACIA EL AREA CONTROLADA



HACIA EL AREA DE LAVADO

EL TERMOPAR 7 ESTA COLOCADO JUNTO AL SENSOR DEL GRAFICADOR

FIGURA 14

condiciones de operación).

- Las velocidades del aire en el horno se ajustarán si es necesario, para cumplir con la distribución del calor con cámara vacía.
- En el lado estéril del horno se debe cumplir con las especificaciones en cuanto al número de partículas permitido.
- Se emitirá un reporte describiendo el programa de validación, incluyendo los resultados en cada fase de los estudios realizados y se establecerán los parámetros de carga y la configuración validada. El reporte lo preparará el grupo de validación.

REPORTE DE VALIDACION.

Se realizaron los experimentos que incluyen estudios de distribución de calor, penetración de calor y estudios de biodesafío con endotoxina, según el protocolo de validación, demostrando que al realizarse el proceso como lo indica el procedimiento estándar de operación, se obtiene un producto estéril y apirogénico para el tipo, cantidad, configuración y tiempo de exposición de dicha carga.

PLAN DE ESTUDIO.

Se realizaron tres corridas de distribución de calor en cámara vacía para determinar el perfil de distribución de temperatura del horno, identificando los puntos fríos y calientes del mismo.

Se colocaron las cajas metálicas perforadas conteniendo un número definido de ampollitas (48000) y un matraz de 5 galones, ó frascos viales 58 ml (2000) y un matraz de 5 galones, según el caso, en el carro charolero, siguiendo la disposición de la figura 12.

Se llevaron a cabo tres corridas con el fin de observar como influye la carga en la distribución de la temperatura .

Se seleccionaron ampollitas de 1 ml y frascos viales de 58 ml ya que son los tamaños extremos utilizados en la producción del departamento de Soluciones Estériles.

Se llevaron a cabo al mismo tiempo las pruebas de penetración y desafío biológico con la endotoxina de *Escherichia coli*.

Los 10 termopares se colocaron dentro de los contenedores en las tres corridas , (figura 13 y 14), los datos de tiempo y temperatura generado por los termopares se utilizaron para calcular un valor de F_w (250°C) para cada tipo de recipiente seleccionado en el horno.

Dos desafíos de endotoxina de *E. coli* de 500 ng (2500 UE) se colocaron en las dos zonas más frías de la carga y en las posiciones más difíciles de despirogenar. Los desafíos de endotoxina fueron colocados en ampollitas o frascos, dependiendo de la carga, en la misma orientación que las demás , el termopar fué colocado dentro del contenedor y se corrió el ciclo estándar del horno.

Cabe mencionar que la endotoxina fué liofilizada en el frasco o la ampollita en estudio, con el fin de facilitar su recuperación una vez corrido el ciclo de despirogenización, y en cada caso se corrió un blanco positivo y un blanco negativo tratado al mismo tiempo y bajo las mismas condiciones. A la endotoxina expuesta al ciclo de despirogenización se le buscó la presencia de pirógenos usando la prueba LAL. El dato obtenido fué comparado contra el criterio de aceptación del protocolo de validación: Un F_w (250 °C) mínimo de 30 minutos para cualquier parte de la carga y una reducción de 3 logaritmos al desafío conteniendo pirógenos. El estudio de cámara vacía requiere una elevación de 250°C más menos 20°C por 30 min.

Los resultados se enlistan en las tablas del resumen.

La descripción de las cargas y la configuración de los termopares está en las figuras 12, 13 y 14.

El horno en estudio se utiliza para despirogenación solamente.

El proceso de despirogenación se realiza a temperaturas más altas que aquellas requeridas para la esterilización, por lo tanto la prueba de biocarga se juzgó innecesaria.

Para el trabajo experimental se utilizó el material y equipo siguiente.

- Horno por calor seco que utiliza convección forzada

Marca CAISA, modelo ET-354-L, número de serie 731368.

- Registrador multipunto.

Marca AZONIX, modelo SCAN-P-X-RS-TEMP. Número de serie 81221-8229, con tarjeta de entrada para 10 termopares.

- Cable para termopar tipo T, (cobre-constantan), calibre 22.

Marca KAYE, recubiertos de Kapton, con el cual se fabricaron los termopares, los cuales fueron CALIBRADOS posteriormente.

- Resistencia de precisión (150 ohms).

Marca KAYE, modelo N1150, número de serie 1821. TRAZABLE A LA NBS.

- Termómetro de resistencia. (RTD) de 100 ohms, modelo RTD 374.

Marca KAYE, número de serie 158183. TRAZABLE A LA NBS.

- Tacómetro.

Marca DEUMO, número de serie 184359.

- Anemómetro de aspa rotatoria.

Marca Airflow, modelo LCA 6000, número de serie 36018.

- Microcomputadora.

Marca Electrón, modelo BPM AT, número de serie 55700458, que cuenta con un puerto para comunicarse al módulo registrador.

- Programa SYMPHONY.
- Programa HARVARD GRAPHICS.
- Programa CHI-WRITER.
- Programa EISCAN de AIDNIX.
- Endotoxina de Escherichia coli.
 Marca Whitaker Bioproducts, lote BL2B30
- Prueba de LAL. Pyrogent.
 Marca Mallinckrodt, lote 9L0910
- Agua libre de pirógenos .
 Marca Mallinckrodt, lote L:9001
- Amperímetro de gancho.
 Marca General Electric.
- Simulador de temperaturas.
 Marca ALTEK, Modelo A22T500C, TRAZABLE A LA NBS.
- Baño de aceite con agitador magnético
 Marca CORNING, modelo PC-320, Número de serie LR 33491

METODO.

Primeraamente se calibró el registrador multipunto con la ayuda de un simulador de temperaturas, trazable a la NBS, calculándose el coeficiente de regresión y ajustando la variación en las lecturas a senos de 0.5°C .

Los termopares utilizados se calibraron antes y después de cada tres corridas con el fin de tener confianza en la veracidad de las lecturas. Esta calibración se llevó a cabo utilizando un baño, haciendo el estudio a dos temperaturas diferentes, 0°C y 300°C , comparando las lecturas con las obtenidas con un RTD (termómetro de resistencia de platino

trazable a la NBS).

Los datos se registraron conforme eran mandados por el AZONIX a una impresora, posteriormente éstos datos fueron capturados en la computadora.

Para el estudio se utilizaron cajas de acero inoxidable perforadas con tapa, (La situación más difícil para la penetración), esto asegura que cargas idénticas sin tapa también son aceptables, de aquí que se pueda afirmar que el proceso es válido para el ciclo validado del horno, estando las cajas con y sin tapa (7, 11, 12, 13, 14, 15, 17, 18, 19, 20, 21).

IV. RESULTADOS.

El F_H se calculó utilizando la fórmula:

$$F_H = \Delta t \sum 10^{\frac{T - T_0}{Z}}$$

Ref. 10.

Siendo:

F_H = Tiempo equivalente en minutos a la temperatura de referencia de 250 °C

Δt = Intervalo de toma de las temperaturas, en minutos.

T = Temperatura registrada por cada uno de los termopares, en °C.

T_0 = La temperatura de referencia, según la USP, para los procesos de despirogenado es de 250 °C.

Z = El número de °C necesarios para cambiar el valor de D por un factor de 10, según referencia 10.

Los valores de Z pueden ser determinados por el uso de la ecuación:

$$Z = \frac{T_1 - T_2}{\log D_2 - \log D_1}$$

Donde D_1 = Valor D a una temperatura T_1 .

D_2 = Valor D a una temperatura T_2 .

Recordando que el valor de D está definido como el tiempo requerido para inactivar el 90 % de la actividad inicial presente, en condiciones particulares de exposición. Para el caso de la endotoxina de *Escherichia coli*, el valor de Z es 46.4 °C, según la referencia 10.

Esta fórmula está calculada para dar el valor en minutos. Si los intervalos de toma de lecturas son diferentes a un minuto, debe multiplicarse el valor por el intervalo de tiempo escogido.

En el horno vacío se colocaron 10 termopares previamente calibrados,

según las posiciones marcadas en las figuras 13 y 14.

Se realizaron 3 corridas para juzgar la reproducibilidad del proceso, los valores obtenidos están ilustrados en la gráfica 1.

El valor de F_w mínimo calculado para el horno vacío fue observado en el termopar 1, siendo el tiempo equivalente a 250 °C de 133.4 minutos. Esto quiere decir, que el proceso produce una temperatura equivalente de 250 °C durante 133.4 minutos.

Se calculó la desviación que tuvieron los valores registrados de los 10 termopares con respecto a la media durante el equilibrio de la cámara en las tres corridas.

Los datos muestran que está dentro de ± 12.7 °C como máximo, (gráfica 2). El protocolo marca un límite de ± 20 °C, por lo tanto, está dentro de las normas prefijadas y se puede continuar con el estudio de validación.

A continuación se procedió a hacer el estudio con cámara cargada utilizando 2000 frascos viales de 58 ml, un matraz refractario de 5 galones y utilizando una configuración igual a la esquematizada en la figura 12.

Los valores obtenidos en las tres corridas están dados en la gráfica 3. La variación de temperaturas con respecto a la media, en las tres corridas, están dadas en la gráfica 4.

El valor de F_w mínimo fue observado en el termopar núm 6, con un tiempo equivalente a 250 °C de 75.3 minutos.

Este valor de 75.3 minutos dice que el proceso tiene en el sitio más frío censado, una temperatura equivalente de 250 °C durante un tiempo de 75.3 minutos, si tomamos en cuenta que el límite que da la USP XX^(1*) es de 30 minutos como mínimo a 250 °C y el Remington's⁽¹⁷⁾ marca un período de 45 minutos a 250 °C, se puede decir que se cumple con las normas.

Para confirmar lo antes dicho, se realizó el reto biológico utilizando endotoxina de *Escherichia coli*. Se colocó una cantidad conocida (2500 U) de endotoxina, previamente liofilizada para facilitar su manejo y recuperación, en 4 frascos de 58 ml, En las dos posiciones con el F_w más bajo, (posiciones 1 y 6, figura 13 y 14).

Se investigó la presencia de la endotoxina, tanto en el material que sufrió el proceso de despirogenado, como en los controles positivos y negativos que se corrieron en forma simultánea y los resultados fueron los siguientes:

En el producto expuesto al proceso de despirogenado no se encontró formación del gel, y dio como resultado una reducción logarítmica de 3 como mínimo.

Los controles positivos y negativos dieron los resultados esperados.

El mismo procedimiento se siguió con las ampollitas de 1 ml.

El valor de F_w mínimo calculado para el horno cargado con ampollitas de 1 ml y un matraz refractario de 5 galones, siguiendo la configuración de carga ilustrada en la figura 12, fué observado en el termopar con la posición 6, el tiempo fué de 122 minutos a una temperatura de referencia de 250 °C, la disposición de los termopares fué como la esquematizada en las figuras 13 y 14.

Los datos de las 3 corridas se representan en la gráfica 5.

En las tres corridas, la variación de las temperaturas con respecto a la media tuvo un valor máximo de 16.4 °C, esto se muestra en la gráfica 6.

Al igual que con los frascos viales, en la cámara cargada con ampollitas de 1 ml, se realizaron estudios de desafío biológico, utilizando 2500 U de endotoxina de *Escherichia coli* liofilizada en cada ampollita, se retaron las posiciones 1 y 6, las cuales tuvieron el F_w más bajo.

Posteriormente se realizó el análisis correspondiente para investigar la presencia de endotoxina, tanto en las ampollitas sometidas al proceso de despirogenado, como en los controles positivos y negativos.

No se encontró pirógenos en el material tratado en el horno, al realizar el análisis por medio de la prueba de amebocitos limulus, (LAL), en las posiciones más frías, es decir, con el Fu. más bajo, termopar en posición 1, (127.4 minutos equivalentes a una temperatura de 250 °C), y termopar en posición 6, (122 minutos equivalentes a una temperatura de 250 °C), figura 13 y 14.

En el caso de los controles, éstos dieron el resultado esperado.

El proceso de despirogenado en el horno en estudio, al cargar la cámara con ampollitas de 1 ml, excede la norma mínima requerida en la USP XX, que es de 30 min a 250 °C. También excede a la norma del Remington's que marca 250 °C por 45 minutos.

La configuración de la carga que se encontró más adecuada, de las diferentes configuraciones probadas, está esquematizada en la figura 12, y es la que se usó en todos los estudios, y se obtuvo, según los datos de distribución obtenidos y tomando en cuenta los requerimientos de la producción, en cuanto al tipo y cantidades, incluyendo un matraz de 5 galones utilizado para recibir la solución ya filtrada en el área de llenado.

La disposición de los termopares, para todas las cargas fué igual a la mostrada en las figuras 13 y 14, y se diseñó teniendo en mente sensar las partes más difíciles para la penetración del calor.

Los termopares se colocaron dentro de las ampollitas conteniendo el reto biológico, éstas ampollitas fueron colocadas en el centro de la caja perforada, con el fin de ponerla en la posición más difícil para la llegada del calor.

Las temperaturas se recabaron cada 15 minutos para los estudios de cámara vacía y horno cargado con frascos viales de 58 ml.

Para las pruebas con aepolletas de 1 ml, los intervalos de toma de temperaturas fueron de 3 minutos..

Los datos generados por las corridas de validación son numerosos, se expone a manera de ejemplo la corrida de penetración y reto biológico #1 correspondiente al frasco vial de 58 ml. (10.14.19.17.20)

TABLAS DE RESUMEN.

HORNO VACIO

CORRIDA # 1 Fh T1=171.3, T2=208.7, T3=256.7, T4=166.6, T5=249.5,
T6=185.5, T7=234.5, T8=220.4, T9=182.0, T10=295.5

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL
EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 8,52 - 6,98

HORNO VACIO

CORRIDA # 2 Fh T1=150.5, T2=210.3, T3=254.8, T4=159.1, T5=261.9,
T6=136.7, T7=304.3, T8=233.3, T9=187.3, T10=305.3

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL
EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 11.9 - 12.7

HORNO VACIO

CORRIDA # 3 Fh T1=133.4, T2=187.3, T3=238.4, T4=149.3, T5=239.8,
T6=206.6, T7=222.4, T8=202.6, T9=167.9, T10=251.1

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL
EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 5.5 - 9.9

CORRIDA CON HORNO LLENO . ESTUDIO DE PENETRACION Y RETO BIOLÓGICO.TIPO DE CARGA: FRASCO VIAL 50 ML.

CORRIDA # 1 Fh T1=89.5, T2=233.1, T3=164.0, T4=171.1, T5=237.3,
T6=91.6, T7=175.7, T8=240.3, T9=220.5, T10=252.4

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL
EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 9.52 - 17.4

CORRIDA CON HORNO LLENO . ESTUDIO DE PENETRACION Y RETO BIOLÓGICO.TIPO DE CARGA: FRASCO VIAL 50 ML.

CORRIDA # 2 Fh T1=99.9, T2=271.6, T3=186.9, T4=181.6, T5=262.2, T6=108.5
T7=203.9, T8=256.5, T9=237.7, T10=266.1

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 9.8 - 17.4

CORRIDA CON HORNO LLENO . ESTUDIO DE PENETRACION Y RETO BIOLOGICO.

TIPO DE CARGA: FRASCO VIAL 50 ML.

CORRIDA # 3 Fh T1=78.5, T2=215.1, T3=129.3, T4=125.6, T5=234.1, T6=75.3
T7=216.9, T8=200.3, T9=110.6, T10=231.8

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 9.2 - 12.8

CORRIDA CON HORNO LLENO . ESTUDIO DE PENETRACION Y RETO BIOLOGICO

TIPO DE CARGA: AMPOLLETA DE 1 ML.

CORRIDA # 1 Fh T1=127.4, T2=235.3, T3=209.6, T4=170.8, T5=272.5, T6=122.5
T7=272.4, T8=220.0, T9=207.6, T10=274.0

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 14.5 - 14.7

CORRIDA CON HORNO LLENO . ESTUDIO DE PENETRACION Y RETO BIOLOGICO

TIPO DE CARGA: AMPOLLETA DE 1 ML.

CORRIDA # 2 Fh T1=127.6, T2=233.9, T3=210.2, T4=172.2, T5=272.9,
T6=122.0 T7=275.9, T8=219.9, T9=206.7, T10=271.4

DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 13.6 - 14.5

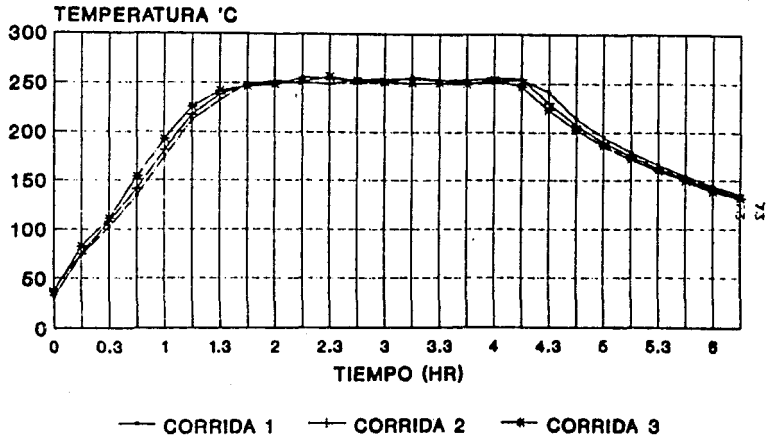
CORRIDA CON HORNO LLENO . ESTUDIO DE PENETRACION Y RETO BIOLOGICO

TIPO DE CARGA: AMPOLLETA DE 1 ML.

CORRIDA # 3 Fh T1=127.6, T2=245.5, T3=194.1, T4=184.0, T5=260.2,
T6=123.9 T7=279.0, T8=225.3, T9=217.0 T10=270.7

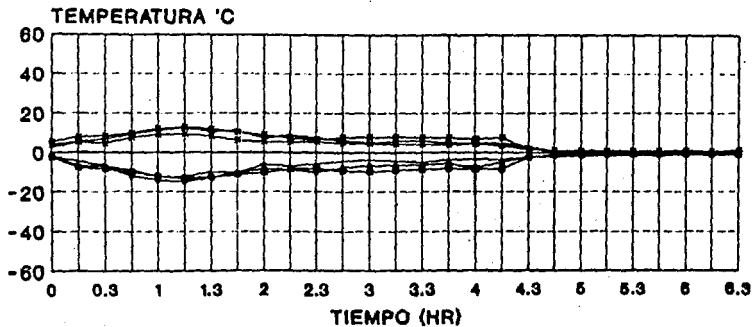
DESVIACION MAXIMA DE TEMPERATURA CON RESPECTO A LA MEDIA EN EL EQUILIBRIO DEL PROCESO: + 12.1 - 16.4 .

HORNO CAMARA VACIA CORRIDAS 1, 2 Y 3.



DISTRIBUCION DE TEMPERATURAS.
GRAFICA 1 PROMEDIOS DE LAS TRES CORRIDAS

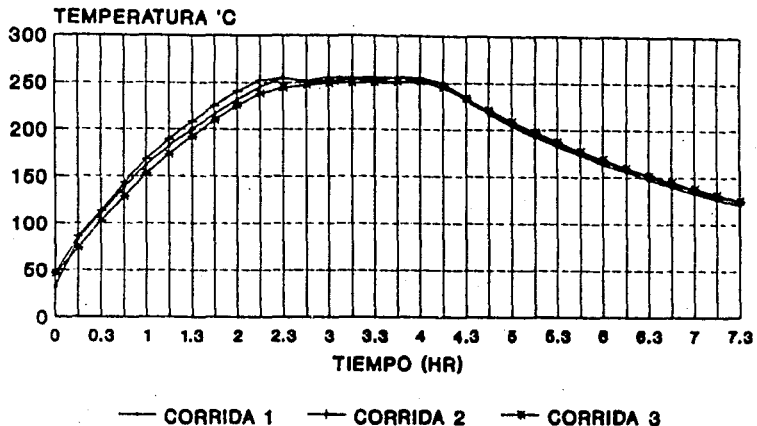
HORNO CAMARA VACIA CORRIDAS 1, 2 Y 3.



— CORRIDA 1 —+ CORRIDA 1 —● CORRIDA 2
—● CORRIDA 2 —+ CORRIDA 3 —● CORRIDA 3

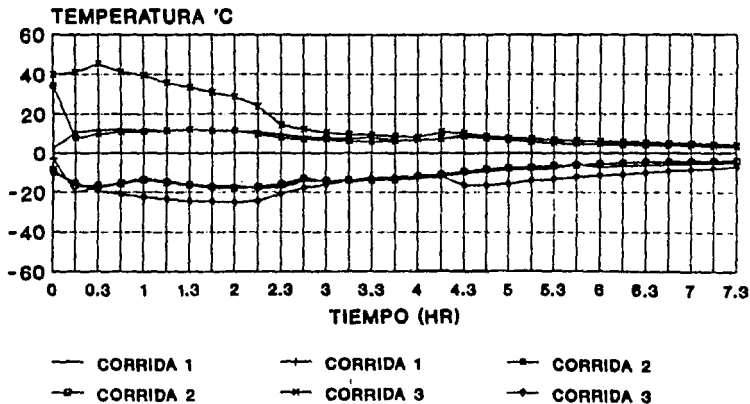
VARIACION DE LAS TEMPERATURAS
CON RESPECTO A LA MEDIA
GRAFICA 2 SIN CARGA.

**HORNO CAMARA LLENA
PENETRACION Y RETO BIOLÓGICO
FRASCO 50 ML CORRIDAS 1, 2 Y 3.**



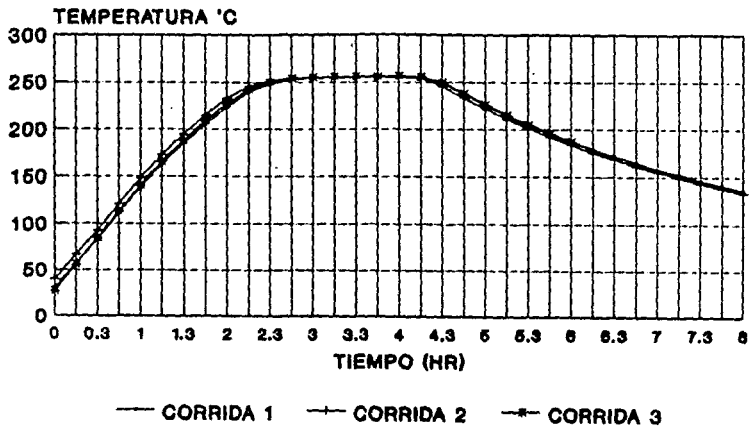
GRAFICA 3 PROMEDIOS DE LAS TRES CORRIDAS

HORNO CAMARA LLENA CORRIDAS 1, 2 Y 3.



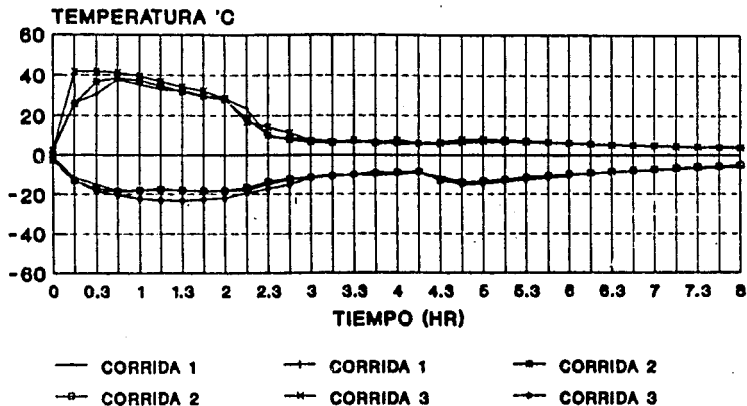
VARIACION DE LAS TEMPERATURAS
CON RESPECTO A LA MEDIA
GRAFICA 4 FRASCO DE 50 ML.

**HORNO CAMARA LLENA
PENETRACION Y RETO BIOLOGICO
AMPOLLETA 1 ML CORRIDAS 1, 2 Y 3.**



GRAFICA 6 PROMEDIOS DE LAS TRES CORRIDAS

HORNO CAMARA LLENA CORRIDAS 1, 2 Y 3.



VARIACION DE LAS TEMPERATURAS
CON RESPECTO A LA MEDIA
GRAFICA 6 AMPOLLETA DE 1 ML.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

79

DISTRIBUCION DE CALOR
HORNO CAISA C.CARGA
CORRIDA 1

TIEMPO	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
10:15.00							
0	32	32,8	31,6	28,9	30	33,4	34,1
0,15	76,2	94	82,5	63,2	85,9	79,4	90,3
0,3	101,6	122,6	110	93,5	114,1	104,6	116,9
0,45	127	150,1	136,9	123	142,2	130,1	143,9
1	148,6	173	160,3	148,7	166,2	152,2	167,3
1,15	167,5	193,1	180,3	171,1	186,8	171,3	186,6
1,3	183,6	210,8	198,2	190,3	204,8	187,1	203,2
1,45	199,3	226,6	214,8	207,5	221,5	203,4	219,1
2	214,6	241,4	230,5	225,2	236,8	217,8	234,5
2,15	227,5	255,3	244,9	238,2	251,9	230,3	248,4
2,3	237,2	263,4	254	249,7	261,1	239,3	256,8
2,45	236,9	256,7	249,1	252,8	257,5	236,7	248,7
3	238,1	256,3	249,6	253,4	257,9	237,2	248,5
3,15	238,7	258,3	251,9	253,1	260,3	239,5	249,5
3,3	239	256,6	250,5	252,7	258,1	238,3	254,5
3,45	242,8	261,4	255,2	252,9	262,2	244,3	258,8
4	242	260	254,4	253,2	261,1	243,2	255,6
4,15	239,1	253,3	248,2	253,1	256	239,2	248
4,3	223,6	231,8	228,9	240,7	236,4	221,5	227,6
4,45	210,1	216,3	213,9	224,5	220,9	207,3	212,8
5	198,3	203,8	201,1	210,8	207,7	195,5	200,8
5,15	187,8	192,6	190,2	198,7	195,1	184,7	189,7
5,3	178,1	182,4	180	187,9	185,3	174,7	179,0
5,45	169,8	175,2	171,3	178	175,8	168	171,2
6	160,3	164,5	161,8	169,1	166,7	157	161,8
6,15	152,1	156,3	153,5	160,4	157,8	149,2	153,3
6,3	144,2	148,4	145,5	152,2	149,7	141,4	146
6,45	137,2	141,2	138,1	144,6	142,3	134,6	138,5
7	130,3	134,5	131,5	137,6	135,4	128	131,8
7,15	124,1	128,2	125,3	131	128,9	122	125,8
7,3	118,6	122,3	119,6	124,9	122,8	116,4	120

T8	T9	T10	PROMEDIO	MAXIMO	MINIMO	DIF	STD
32,1	29,3	31,3	31,55	34,1	26,9	5,2	1,63
93,8	83,2	86,2	83,47	94	63,2	30,8	8,71
122,8	110,4	114,9	111,14	122,8	93,5	29,3	8,78
150,5	138,9	142,9	138,55	150,5	123	27,5	8,87
173,5	162,4	166,3	161,85	173,5	148,6	24,9	8,79
193,6	183,4	187,4	182,13	193,6	167,5	26,1	8,84
211,6	201,8	205,9	199,73	211,6	183,0	28	9,24
227,3	218,6	222,7	216,08	227,3	199,3	28	9,18
242,4	234,1	238,4	231,37	242,4	214,6	27,8	9,23
255,9	249,3	253,2	248,49	255,9	227,5	28,4	9,67
264,2	258,6	262,5	254,68	264,2	237,2	27	9,25
256,9	253,3	259	250,96	259	236,7	22,3	7,79
256,7	256,3	259,3	251,33	259,3	237,2	22,1	7,58
259,6	258,5	260,9	253,48	260,9	238,7	22,2	7,77
256,9	257,2	259,9	251,87	259,9	238,3	21,6	7,33
261,9	260,9	262,8	256,32	262,8	242,8	20	7,06
260,8	260,3	262,1	255,27	262,1	242	20,1	6,77
253,6	255,8	257,7	250,3	257,7	238,2	19,5	6,53
232,4	235,7	237,6	231,62	240,7	221,5	19,2	5,90
217	221,3	222,2	216,63	224,5	207,3	17,2	5,74
204,4	208,5	209,3	204,02	210,8	195,5	15,3	4,82
193,2	197,1	197,7	192,78	198,7	184,7	14	4,42
182,9	186,5	187	182,46	187,9	174,7	13,2	4,09
173,6	176,9	177,3	173,51	179	168	10	3,25
164,8	167,5	168,1	164,16	169,1	157	12,1	3,68
156,3	158,8	159,6	155,73	160,4	149,2	11,2	3,43
148,4	150,6	151,4	147,78	152,2	141,4	10,8	3,27
141,3	143,2	143,9	140,5	144,6	134,6	10	3,08
134,4	136,3	136,9	133,67	137,6	128	9,6	2,98
128,1	129,6	130,4	127,34	131	122	9	2,78
122,1	123,6	124,2	121,45	124,9	116,4	8,5	2,57

Se multiplica por 15, (Intervalo de tiempo entre cada

Fh							
% C.V.	T1	T2	T3	T4	T5	T6	T7
5,16	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
10,44	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
7,90	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
6,40	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00	0,00	0,01
5,43	0,01	0,02	0,01	0,01	0,02	0,01	0,02
4,85	0,02	0,06	0,03	0,02	0,04	0,02	0,04
4,63	0,04	0,14	0,08	0,05	0,11	0,04	0,10
4,25	0,08	0,31	0,17	0,12	0,24	0,10	0,22
3,99	0,17	0,65	0,38	0,26	0,52	0,20	0,46
3,94	0,33	1,30	0,78	0,56	1,10	0,38	0,92
3,63	0,53	1,94	1,22	0,99	1,73	0,59	1,40
3,11	0,52	1,39	0,96	1,15	1,45	0,52	0,94
3,02	0,55	1,37	0,98	1,18	1,48	0,53	0,93
3,07	0,57	1,51	1,10	1,17	1,67	0,59	1,22
2,91	0,58	1,39	1,03	1,14	1,49	0,56	0,98
2,76	0,70	1,76	1,29	1,15	1,83	0,75	1,55
2,73	0,67	1,64	1,24	1,17	1,73	0,71	1,32
2,61	0,58	1,18	0,91	1,17	1,35	0,56	0,91
2,55	0,27	0,41	0,35	0,63	0,51	0,24	0,33
2,46	0,14	0,19	0,17	0,28	0,24	0,12	0,16
2,36	0,08	0,10	0,09	0,14	0,12	0,07	0,09
2,29	0,05	0,06	0,05	0,08	0,07	0,04	0,05
2,24	0,03	0,03	0,03	0,05	0,04	0,02	0,03
1,87	0,02	0,02	0,02	0,03	0,03	0,02	0,02
2,24	0,01	0,01	0,01	0,02	0,02	0,01	0,01
2,20	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01
2,21	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	0,01
2,19	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	0,00	0,00
2,23	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,18	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
2,12	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
lectura)	5,97	15,54	10,93	11,40	15,62	6,11	11,72
	89,49	233,04	164,01	171,05	237,33	91,58	175,73

T8	T9	T10	PROMEDIO	MAXIMO	MINIMO	MAX-PR	PR-MIN
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	2,55	2,65
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	10,53	20,27
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	11,66	17,64
0,01	0,00	0,00	0,00	0,01	0,00	11,95	15,55
0,02	0,01	0,02	0,01	0,02	0,01	11,65	13,25
0,06	0,04	0,04	0,03	0,06	0,02	11,47	14,63
0,15	0,09	0,11	0,08	0,15	0,04	11,87	16,13
0,32	0,21	0,26	0,19	0,32	0,08	11,22	16,78
0,69	0,45	0,56	0,40	0,69	0,17	11,03	16,77
1,34	0,97	1,17	0,80	1,34	0,33	10,41	17,99
2,02	1,53	1,86	1,26	2,02	0,53	9,52	17,48
1,41	1,30	1,56	1,05	1,56	0,52	8,04	14,26
1,39	1,37	1,59	1,07	1,59	0,53	7,97	14,13
1,61	1,52	1,72	1,19	1,72	0,57	7,42	14,78
1,41	1,43	1,63	1,10	1,63	0,56	8,05	13,57
1,80	1,72	1,89	1,37	1,89	0,70	6,48	13,52
1,71	1,67	1,82	1,30	1,82	0,67	6,83	13,27
1,20	1,33	1,47	1,01	1,47	0,56	7,4	12,1
0,42	0,49	0,54	0,40	0,63	0,24	9,08	10,12
0,19	0,24	0,25	0,19	0,28	0,12	7,87	9,33
0,10	0,13	0,13	0,10	0,14	0,07	6,78	8,52
0,66	0,07	0,07	0,06	0,08	0,04	5,92	8,08
0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,02	5,44	7,76
0,02	0,03	0,03	0,02	0,03	0,02	4,47	5,51
0,01	0,02	0,02	0,01	0,02	0,01	4,94	7,16
0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	4,67	6,53
0,01	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00	4,42	6,38
0,00	0,00	0,01	0,00	0,01	0,00	4,1	5,9
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,93	5,67
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,66	5,34
0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	3,45	5,05
16,02	14,70	16,83	11,72	17,55	5,82		
240,34	220,49	252,42	175,73	263,27	87,29		

Valores de Fh acumulado en todos y cada uno de los 10 termopares

* 15 min Σ 10 $\alpha = 250/40.4$

(5)

V. CONCLUSIONES.

Los datos experimentales contenidos en las tablas de resumen , demuestran que el proceso es capaz de esterilizar y despirogenar los patrones de carga extremos utilizados en el departamento, los cuales están contenidos en charolas de acero inoxidable perforadas, con tapa o sin ella, utilizando la configuración de carga como se esquematiza en la figura 12, así mismo, es necesario utilizar el programa del horno, siguiendo el procedimiento de operación tal y como se indica.

Los datos obtenidos muestran que se puede disminuir el tiempo del proceso de las ampollitas y frascos, evitando con esto una sobreexposición , de ésta forma se podría optimizar el ciclo, al consumir menos tiempo en el proceso y por lo tanto menos energía, aparte de que al disminuir la exposición al calor, las mermas por partículas desprendidas de las paredes de los contenedores tiende a disminuir.

Con esto se cumple un objetivo alterno de la validación, que es, no sólo verificar que el proceso haga lo que tiene que hacer, sino también finca las bases para optimizar dicho proceso.

Por lo que se ha visto a lo largo de este estudio, se debe considerar a la validación, como un estudio que involucra y pone en contacto a varios departamentos de diferentes especialidades, los cuales, en un momento dado y basándose en pruebas diseñadas y documentadas, permite confiar que un proceso hace lo que tiene que hacer, sin embargo, la validación no es algo estático, sino mas bien dinámico, es una forma de actuar y de actuar bien, para que ésta certeza y confianza en el proceso no desaparezca con el paso del tiempo. Para esto, los departamentos tienen que cuidar al equipo, manteniéndolo dentro de las normas operacionales fijadas, ya que un programa de validación es tan efectivo como los cuidados que se tomen para mantenerlo confiable todo el tiempo.

VII. GLOSARIO

ASEGURAMIENTO DE CALIDAD: La actividad que da a todos los responsables involucrados la evidencia necesaria para establecer la confianza de que la función de control de la Calidad esta siendo realizada adecuadamente.

BIOINDICADORES PARA ESTERILIZACION. Son preparados biológicos que contienen microorganismos vivos, en la mayoría de los casos, una sola especie formadora de esporas, con resistencia conocida frente al agente esterilizante.

CALIBRACION: Es la comparación de un aparato de medición con un instrumento de exactitud conocida considerado como estándar o patron, para confirmar, detectar, correlacionar, reportar, ajustar o eliminar cualquier variación en la exactitud del instrumento que es comparado.

CALIFICACION DE LA INSTALACION: Verificación documentada de que todos los aspectos de la instalación se ajustan a las especificaciones de manufactura, los planos son los apropiados y fueron aprobados por las personas o autoridades competentes.

CALIFICACION OPERACIONAL: Verificación documentada de que el sistema o subsistema funciona como se ha proyectado, en cada una de sus partes y de manera reproducible.

CONTROL DE CALIDAD: Es el conjunto de actividades diseñadas para asegurar la calidad de los productos fabricados, comparandolos con los estándares establecidos.

DESPIROGENIZACION: Es el proceso que tiene por objetivo inactivar los restos de las bacterias gram negativas que pudieran estar contaminando materiales o equipo. Este proceso puede ser clasificado por su forma de acción en dos grandes grupos:

REMOCIÓN: Basada en las propiedades moleculares de los pirogenos. Puede ser removida por lavado, ultrafiltración, ósmosis inversa, filtros con carga modificada, membranas microporosas hidrofóbicas, afinidad cromatográfica, destilación y filtración por profundidad (3).

INACTIVACIÓN: Puede ser inactivada por calor seco, el método de ácidos o bases, calor húmedo, sustancias oxidantes, agentes alcalinos y radiación ionizante.

ENDOTOXINA: Este material es asociado con la membrana externa de las bacterias gram negativas y son desechos de la célula bacteriana y también restos de la bacteria cuando esta muere. En forma purificada, la endotoxina es un polvo blanco compuesto de lipopolisacáridos y está compuesta de tres distintas porciones moleculares, la más importante de estas es el lípido A, que es el responsable de la fiebre, además de otras reacciones biológicas.

PARAMETROS DE CONTROL: Variables operacionales a las cuales se les asignan valores que son usados como niveles de control.

PIROGENOS: Son sustancias que inducen fiebre cuando son administradas a animales por diferentes vías de administración.

ESTERILIZACIÓN: Es el proceso, físico o químico, que destruye o elimina a los microorganismos.

REPORTE DE VALIDACIÓN: Es el reporte técnico del resultado derivado de la ejecución del protocolo de validación.

REVALIDACIÓN: Es la repetición total de un proceso de validación o de una determinada parte de él.

RTD: (Detector de temperaturas por resistencias). Contiene una resistencia la cual cambia de valor con la temperatura de una manera conocida y logra una sensibilidad de 0.01 °C.

SUPLEMENTO DE PROTOCOLO: Documento en el cual se explica un cambio al

procedio original, incluyendo las razones para llevarlo a cabo.

TERMOPAR: Es un aditamento que mide la temperatura, está constituido por la union de 2 alambres de diferente composicion y logra una sensibilidad de 0.1 C.

VALIDACION: Conjunto de procedimientos que establecen evidencia documentada de que un sistema o proceso hace lo que tiene que hacer.

VARIABLES OPERACIONALES: Todos los factores incluyendo parametros de control, los cuales pueden potencialmente afectar el estado de control del proceso y/o la calidad del producto final.

VALOR D, VALOR D₁₀ O REDUCCION DECIMAL (DRT): Este valor está definido como el tiempo requerido para inactivar el 90% de las células presentes o reducir la población microbiana a un décimo de su valor, que es una reducción logarítmica, en unas condiciones particulares de exposición.

VALOR F₀: El valor F₀ expresa de una manera cuantitativa el tiempo equivalente al cual una población de microorganismos teniendo un valor de Z determinado, ha permanecido a una temperatura de referencia. Las unidades no son unidades de tiempo de reloj, más bien el tiempo F₀ es la suma de los tiempos en el que el organismo utilizado está expuesto a la temperatura de referencia, más las fracciones correspondientes a los tiempos equivalentes a menor temperatura. F₀ es un término sumatorio, es un valor referido a la temperatura de referencia, e incluye el efecto del calor sobre el microorganismo durante las fases de calentamiento y enfriamiento del ciclo de esterilización o desinfección, tomando en consideración que el efecto del calor por debajo de la temperatura de referencia no es tan efectivo en destruir la vida microbiana como lo es a la temperatura de referencia.

VALOR Z: El valor de Z de un microorganismo es una medida de como la resistencia al calor cambia con cambios en la temperatura. Z es

definido como el número de grados de temperatura que se requieren para cambiar el valor de D por un factor de diez. Es el valor de Z el que permite la integración del efecto letal del calor a medida que la temperatura cambia, durante las fases de calentamiento y enfriamiento en un ciclo de esterilización o despirogenado.

El valor de Z es necesario para hacer cálculos que permiten comparaciones de la letalidad de las esporas o de la endotoxina a diferentes temperaturas.

Los valores de Z pueden ser determinados de la siguiente manera:

- 1.- Determinando el valor de D de un organismo, o en el caso del proceso de despirogenado, de la endotoxina de *Escherichia coli* (lipopolisacárido), como mínimo a tres temperaturas diferentes.
- 2.- Construir una curva de muerte térmica o de inactivación, graficando el logaritmo del valor de D en la ordenada de la gráfica contra la temperatura en la abscisa.
- 3.- Trazar una línea recta a través de los puntos de los datos. El valor de Z es el cambio en la temperatura para que el valor de D cambie, por un factor de 10, (o el cambio por un número logarítmico). El valor de Z es también igual a la recíproca negativa de la pendiente ²⁰.

Los valores de Z pueden ser determinados por el uso de la ecuación:

$$Z = (T_1 - T_2) / (\log D_2 - \log D_1)$$

Donde D_1 = valor D a una temperatura T_1

y D_2 = valor D a una temperatura T_2

Los valores de Z varían de microorganismo a microorganismo y también dependen del proceso, cuando se desconocen estos valores se asume que:

Para esterilización por calor húmedo: $Z = 10$ °C

Para esterilización por calor seco: $Z = 20$ °C

Para despirogenar: $Z = 54$ C

En el caso específico de esta validación se utilizó el valor de 46.4 C para la endotoxina de *Escherichia coli* (lipopolisacárido) .

VI. BIBLIOGRAFIA.

- 1 - Avis, K.E. "Studies on the Thermal Destruction of Escherichia coli Endotoxin.". Parent. Sci. and Technol. vol. 41. núm 2. mar.-abr. 1987. p.49-56.
- 2 - Baird, R. "Validation of Dry Heat Tunnels and Ovens".. Pharm. Engr., Vol 8. Num. 2 March-April 88 p. 31-33.
- 3 - Berman, D. "Cycle Development Criteria for Removal of Endotoxin by Dilution from Glassware.". Parent Sci. and Technol. Vol. 41. Núm. 5. Sept-Oct. 1987. p. 158-63.
- 4 - Berry, I.R. "Process Validation: Practical Applications to Pharmaceutical Products.", Drug Dev. and Ind Pharm., vol. 14. núm. 2-3. feb. 1988. p. 377-89.
- 5 - Carleton, F.L., Aqualoco, J.P. "Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes.". Marcel Dekker, Inc., 1986 p. 1-16, 29-46, 319-355.
- 6 - Costin, I.D., Griau, J. "Bioindicadores para Control de Esterilización. Control de Esterilización en Autoclave con el Bioindicador SIERIKON."Separata de Kontakte 2/74. p. 33-39.
- 7 - Fry, M.E. "General Principles of Process Validation.", Pharm Engr., Vol 34. 1984 p.33-36.
- 8 - Harold, E.S. "Instrumentación Industrial.",Ed. Limusa. p. 28-31, 107-127, 148-177.
- 9 - Helman, H. "Farmacotecnia Teórica v Práctica". Compañía Editorial Continental, S.A., México. Tomo VI, p 1287-1311.
- 10 - Ludwinq, J.D., et. al. "Validation of a Heating Cell for Precisely Controlled Studies on the Thermal Destruction of Endotoxin in Glass.". Parent. Sci. and Technol., vol. 42. num. 1. ene.-feb. 1988.

p. 7-14.

- 11 - Ludwing, J.D., Avis, K.E. "Recovery of Endotoxin Preparations from the surface of Glass Capillary Tubes.", J. Parent Sci Technol., vol. 43, num. 6, nov.-dic. 1989, p. 276-78.
- 12 - Melgaard H.L. "Filter Shedding and Automatic Pressure Balance in Batch Depyrogenation Ovens.", Pharm. Engr., vol 8, num. 6, nov.-dic. 1988, p. 37.
- 13 - Murray, R. S. "Estadistica.", Mc Graw Hill, p. 69-73.
- 14 - Olson, W.P., Groves J.M. "Aseptic Pharmaceutical Manufacturing.", Intherpharm Press 1987, p.75-100.
- 15 - Pflug, I.J. "Biological Indicators in the Pharmaceutical and the Medical Device Industry.", Parent. Sci. and Technol., vol. 40, num. 5, oct. 1986, p. 242-248.
- 16 - Halston, A.H., et.al. "Planning for Commissioning and Validation of Pharmaceutical Building Sisteas.", Pharm. Engr., vol. 8, num 4, jul.-ago. 1988, p.25-27.
- 17 - Martin, E.W. "Remington's Pharmaceutical Sciences", Fourteenth Edition, Mack Publishing Company, Easton, Pa. 1970, p 1524.
- 18 - Seymours, S. B. "Desinfection, Sterilization, and Preservation.", Third edition, LEA and FERIGER 1983 Philadelphia, p.3-40 v 877-880.
- 19 - The United States Pharmacopeia, Twentieth Revision, United States Pharmacopeial Convention, Inc. 1980, pp 902.
- 20 - Validation of Dry Heat Processes Used For Sterilization and Depyrogenation.", Tech. Rpt. No. 3, Parenteral Drug Association, Inc. (1981).
- 21 - Wash, F.A. "A method For Calculating Thermal Sterilization Conditions Based Upon Process Parametrics.", J. of Parenteral Sci. and Technol. Vol. 8, Num. 2 Nov-Dic. '85, p. 251-256.