

1272
261



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**PRODUCCION DE AGUA PARA INYECTABLES
FUNDAMENTOS PARA SUPERVISORES**



TRABAJO ESCRITO

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
MOISES BRISEÑO SARMIENTO



MEXICO, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

INDICE

PAGINA

INTRODUCCION

CAPITULO 1

CONSIDERACIONES GENERALES

- OBTENCION Y ALMACENAMIENTO DE AGUA	4
- FILTRACION	6
- CLARIFICACION	9
- INTERCAMBIO IONICO	10
- PIROGENOS	12
- ESTERILIZACION	14

CAPITULO 2

- FABRICACION DE AGUA PARA INYECTABLES	21
- FILTRACION Y DESMINERALIZACION	23
- DESTILACION	35
- CLARIFICACION	42
- FILTRACION PARA ESTERILIZACION	60
- PIROGENOS Y DESPIROGENIZACION	72
- LLENADO Y SELLADO	85
- COMENTARIOS	102
- BIBLIOGRAFIA	108

INTRODUCCION

Los productos parenterales se destinan a administración por inyección a través de una o más capas de piel o membranas mucosas, generalmente en forma de soluciones o suspensiones. Ya que la vía parenteral introduce el medicamento en tejidos internos del cuerpo, anula la primera línea de defensa del organismo, que es la piel. Debido a esto, dichos medicamentos deben ser de un nivel de pureza excepcionalmente alto, para estar exentos de la contaminación que pudiera causar daños adicionales a la salud (obviamente ya deteriorada) del paciente. Por lo tanto, todos los componentes y todos los procedimientos involucrados en la preparación de estos productos, deben ser seleccionados o diseñados para eliminar o disminuir hasta un límite aceptable de seguridad, la contaminación de todo tipo en el producto final. Las anteriores características son las cualidades que distinguen a los productos parenterales de los otros tipos de productos farmacéuticos. (20)

Por una serie de cualidades que se podrían resumir en el hecho de ser el vehículo natural de todos los fluidos del cuerpo humano, el disolvente más usado en la manufactura de productos inyectables es el agua estéril para inyectables, que se destina al uso como disolvente, vehículo o diluyente de fármacos para uso parenteral.

De los procedimientos para obtención de agua estéril para inyectables, el probadamente más confiable en la actualidad, es la destilación, precedida de desmineralización y desgasificación y complementada con esterilización clarificación y despirogenización.

Desde un punto de vista operativo, algo trascendental en la calidad de la manufactura de agua estéril para inyección (y todos los productos parenterales), es la actitud altamente ética y profesional del responsable directo del proceso, quien no debe permitirse pensar en la aplicación de métodos o ingredientes de inferior calidad a los especificados. Cotidianamente deberá emplear en forma plena su instrucción en las técnicas especializadas requeridas en el proceso, ya que los retos a sus conocimientos serán muchos y variados.

En las condiciones mencionadas, el objetivo del presente trabajo es recopilar la información básica de carácter técnico, referente a las diversas etapas de fabricación de agua estéril inyectable, dirigida a supervisores y operarios especializados, con la intención de que se fundamente el conocimiento de cómo y porqué son críticas todas las operaciones que los involucran en el proceso y así motivar su participación responsable, técnica y moral, en la determinación de las características específicas de una operación particular.

CAPITULO 1

CONSIDERACIONES GENERALES

OBTENCION Y ALMACENAMIENTO DE AGUA

Las características fundamentales que determinan la calidad del agua son: Contenido de sólidos totales y contenido de microorganismos. La calidad del agua varía de acuerdo con su fuente de obtención.

En las áreas rurales las fuentes de obtención usuales son aguas sin tratamiento previo, que pueden encontrarse superficialmente en lagos, ríos, etc., o bien en forma subterránea en corrientes freáticas o profundas. Los contaminantes comunmente encontrados en las aguas no tratadas son: partículas en suspensión (orgánicas e Inorgánicas), sales alcalinas, metales pesados, gases disueltos y residuos de procesos industriales (pesticidas, detergentes, etc.). la carga microbiana tendrá variaciones notables cuantitativa y cualitativamente, según se trate de aguas de superficie, freáticas o profundas. (1)

En las áreas urbanas la fuente de abastecimiento será la red de agua potable. Esta agua

por ser resultado de tratamientos previos de purificación, generalmente no contiene sales tóxicas, ni metales pesados en cantidades significativas, no tiene color, olor ni sabor desagradables, la carga microbiana total es generalmente baja y no contiene microorganismos coliformes. (3)

En el agua almacenada por largo tiempo los microorganismos se reproducen rápidamente; en tanques de almacenamiento para uso industrial, el llenado intermitente permite que la carga microbiana contenida en el tanque contamine al agua pura que se recibe, alcanzándose en estas condiciones, cuentas microbianas excesivamente altas. (2)

Para lograr la purificación del agua se utilizan varios procesos según el caso.

A continuación se describen los más usados:

FILTRACION

Los medios filtrantes se clasifican de manera general en dos clases: De profundidad y de superficie.

Los filtros de profundidad están constituidos por una matriz de esférulas o de fibras orientadas al azar; unidas, comprimidas o entreteljidas para formar una masa sinuosa de canales de flujo. Como ejemplo de este tipo de medios filtrantes se pueden mencionar: grava, arena, tierra de diatomáceas, porcelana, fibra de vidrio, algodón, etc. la ventaja fundamental de este tipo de filtros consiste en su gran capacidad de retención de partículas, tanto en su superficie como a lo largo de los canales de la matriz. Sus desventajas más notables son :

A) Migración de medio filtrante debido a la estructura discontinua de las fibras o esférulas que lo forman, los fragmentos desprendidos se incorporan al filtrado.

B) Contaminación microbiana en los canales de la matriz.

C) No tienen un tamaño de poro definido, por lo cual no es posible una retención cuantitativa de partículas de un tamaño determinado.

D) Retienen un gran volumen del líquido en filtración.

Los filtros de superficie consisten en una estructura de malla rígida, uniforme y continua, que retiene a las partículas en su superficie, separándolas del líquido que las contiene. Cada poro constituye un canal continuo, que comunica la superficie superior con la inferior del filtro. Como ejemplos se pueden mencionar: malla metálica; vidrio poroso; malla de dacrón, materiales poliméricos sintéticos; etc. La uniformidad del tamaño de los poros permite predecir con certeza el tamaño de la mayor partícula que puede pasar a través del filtro. Las ventajas más importantes de este tipo de filtro son:

A) No hay migración del medio filtrante porque su estructura es continua.

B) Su retención es cuantitativa para un tamaño de partícula determinado.

C) No se afecta significativamente por variaciones en la velocidad o en la presión del flujo.

D) El crecimiento microbiano generalmente no representa un problema.

E) Retiene muy poco volumen del líquido en filtración.

Su principal desventaja es la baja capacidad de carga de partículas, ya que la retención se limita a la superficie superior del filtro.

CLARIFICACION

Se da el nombre de clarificación, al proceso de filtración en el cual la concentración de sólidos a separar es sumamente baja.

Uno de los requisitos que deben cumplir las soluciones para administración parenteral, es la ausencia de material particulado tal como: polvo, fibras, partículas de vidrio, partículas de hule, etc. Se ha establecido que este material particulado tiene la capacidad de inducir granulomas, trombos y bloqueo de los vasos sanguíneos; cuando se administra por vía parenteral. Adicionalmente, está presente el riesgo de introducir en el paciente, agentes químicos indeseables y posiblemente tóxicos. (21)

Para la clarificación o "pulido" del agua para inyectables, se emplea el proceso de microfiltración, que separa partículas en el intervalo de tamaño de 0.25 a 10.0 micras, empleando filtros de membrana microporosa.

INTERCAMBIO IONICO

El fenómeno de intercambio iónico involucra una fase sólida enlazada a grupos ionizables, una porción de dicho grupo se une permanentemente al soporte sólido y la porción libre consiste en un ión que puede substituirse.

Actualmente, los intercambiadores iónicos de uso común están constituidos por resinas sintéticas, que son polímeros tridimensionales (formados por enlaces cruzados), insolubles, con un grupo polar no difusible, unido a un ión difusible. Cuando las resinas se suspenden en un líquido ionizante, por ejemplo agua, se produce un intercambio entre los iones de la resina y los iones del mismo signo que se encuentren suspendidos en el líquido.

El intercambio iónico es una reacción reversible que involucra cantidades químicamente equivalentes. Cuando se satura la capacidad de intercambio del sorbente sólido se debe efectuar un tratamiento de regeneración o reactivación con una

solución que contenga el ión inicialmente presente en el sorbente. Un exceso constante de este ión durante la etapa de regeneración provocará que el equilibrio de la reacción se revierta, llevando a la resina a su condición inicial.

Los sorbentes sólidos contienen una porción significativa de microporos, que va de 5 a 60% en volumen. Si el diámetro promedio de tales microporos es del orden de 150 angstroms se dice que el sorbente es microcristalino; si este diámetro promedio es muy pequeño, en el orden de 5 angstroms, se le denomina sorbente resinoso. (3)

PIROGENOS

Los pirógenos son sustancias que inducen fiebre cuando se administran por vía parenteral. Los pirógenos son productos del crecimiento microbiano, siendo los más potentes las endotoxinas producidas por bacterias gram negativas. Estas endotoxinas son compuestos que forman parte de la membrana exterior de las bacterias gram negativas. Las toxinas se liberan constantemente al medio en que se encuentra la bacteria por desprendimiento de las capas superficiales de la membrana. Cuando la bacteria muere, la autólisis celular libera casi la totalidad de las endotoxinas de la membrana, éstas contienen lípidos, carbohidratos y proteínas; si se someten a purificación se puede eliminar la parte proteica sin que disminuya la actividad pirogénica, por lo cual las endotoxinas se clasifican como lipopolisacáridos cuando se define su naturaleza química. De manera común, las denominaciones de pirógeno, endotoxina y lipopolisacárido se emplean como sinónimos. (23)

Se han empleado algunos métodos para eliminar o disminuir el contenido de pirógenos durante el proceso de fabricación de productos farmacéuticos:

A) Calentamiento a altas temperaturas (250 grados centígrados por 45 minutos, 650 grados centígrados por 1 minuto, ó 180 grados centígrados por 4 horas).

B) Destilación del agua para fabricación.

C) Descomposición química con un agente ácido, alcalino u oxidante.

D) Filtración en filtros de profundidad o membranas de ultrafiltración.

La presencia de pirógenos más allá del límite permisible, en un producto farmacéutico de uso parenteral, indica un proceso inadecuado de manufactura.

ESTERILIZACION

Se entiende por esterilización el procedimiento tendiente a la destrucción o eliminación de todas las formas de vida. El término esterilidad es un concepto absoluto, sin embargo, la eliminación de microorganismos es una función de probabilidad, existiendo siempre la posibilidad de que permanezcan viables algunos microorganismos. Adicionalmente existe el riesgo de que el tratamiento de esterilización tenga un efecto perjudicial en los artículos que se esterilizan. Por lo anterior, el diseño del proceso de esterilización debe establecer un compromiso entre el máximo daño permisible para el artículo tratado y la máxima probabilidad de alcanzar la esterilidad. (21)

Los procedimientos más usuales en las manufacturas farmacéuticas son:

- Esterilización por calor:

Su acción destructiva en los componentes de la célula, aparentemente se debe a la inducción de cambios químicos letales mediados por oxígeno y/o agua.

Estas oxidaciones y/o hidrólisis tienen como efecto la desnaturalización de proteínas estructurales y funcionales. La esterilización por calor puede ser por vía húmeda o por vía seca.

La esterilización por calor húmedo emplea vapor de agua saturado y seco, en ausencia de aire. El ciclo básico consiste en:

A) Una etapa de calentamiento y desplazamiento del aire.

B) Una etapa de esterilización propiamente dicha que comúnmente se establece de 15 minutos a 121 C.

C) Una etapa de enfriamiento.

D) Ingreso de aire estéril para presurizar el autoclave y permitir su apertura.

La esterilización por calor seco se aplica cuando la naturaleza del material no permite el uso de

calor húmedo, o bien cuando la vía seca ofrece ventajas de orden práctico. El método común es el calentamiento de aire en el interior de una estufa a 160-170 C durante 1-2 horas.

Esterilización por Oxido de Etileno:

El Oxido de Etileno es un gas con actividad altamente germicida. Inicialmente se usó sólo en equipos pequeños, debido a que sus características de tóxico, inflamable y explosivo, impidieron su empleo en gran escala. Posteriormente se recurrió al uso de mezclas con gases inertes como el Dióxido de Carbono o los derivados clorofluorados del Metano (Freón) que redujeron los riesgos y facilitaron su manejo en volúmenes mayores.

Los factores que regulan la eficiencia del Oxido de Etileno como agente esterilizante son: concentración, temperatura, presión, humedad relativa y tiempo. El ciclo básico de esterilización consiste en:

A) Vacío inicial y período de estabilización.

- B) Carga de gas.
- C) Etapa de esterilización con control permanente de todos los parámetros.
- D) Vacío terminal.
- E) Ingreso de aire estéril para permitir la apertura del autoclave.

- Esterilización por radiaciones ionizantes:

Se llaman radiaciones ionizantes a las que disipan su energía en su paso a través de la materia, provocando la expulsión de electrones y dejando iones cargados positivamente. dentro de una célula, este primer evento es seguido de reacciones químicas, cuyo efecto es la muerte celular. Se piensa que la lesión letal es la rotura de enlaces en las cadenas de ADN de la célula.

Los métodos de elección para esterilización por radiaciones ionizantes son la luz ultravioleta y las radiaciones gamma.

La luz ultravioleta está constituida por fotones de baja energía con longitud de onda entre 200 y 400 nanómetros; la longitud de onda de 265 nanómetros presenta la mayor actividad germicida. En la práctica se emplea luz de 253 nanómetros producida por una lámpara de mercurio y que alcanza un 75% de la actividad germicida de la luz de 265 nanómetros.

La acción de la luz ultravioleta presenta efectos secundarios inconvenientes como: producción de Ozono en el aire o agua y riesgos de lesiones en humanos, como eritemas o conjuntivitis.

La radiación gamma producida por Cobalto-60 tiene una gran capacidad de penetración en diversos materiales. Se han publicado experiencias concretas con resultados satisfactorios en un gran número de medicamentos y materiales. Su desventaja principal es

la formación de radicales libres que podrían causar fenómenos de óxido-reducción, polimerización, etc.

Adicionalmente se producen otros efectos indeseables como: cambio de color en los productos, obscurecimiento del vidrio y descomposición del Cloruro de Polivinilo. (22)

- Esterilización por filtración:

La esterilización por filtración se emplea fundamentalmente para soluciones termolábiles y consiste en la retención de partículas viables biológicamente, hasta el tamaño representado por las bacterias. Los medios filtrantes empleados en ultrafiltración y ósmosis Inversa se suponen capaces de retener virus y moléculas de material pirógeno.

Los filtros para esterilización son delgadas membranas plásticas, de ésteres de celulosa o de otros materiales sintéticos; sus poros son uniformes en tamaño y representan aproximadamente el 80% del volumen total

de la membrana. El tamaño de poro recomendado para retener microorganismos es de 0.22 ó 0.45 micras.

El filtro, sus accesorios y el recipiente receptor deben esterilizarse previamente por medios adecuados. La solución por esterilizar se pasa a través del filtro usando presión positiva en la porción no estéril del sistema.

Una de las ventajas importantes que ofrece un filtro de membrana es la posibilidad de comprobar su integridad antes y después de la filtración por medio de una prueba de difusión, o bien el ensayo de punto de burbuja. (23)

CAPITULO 2

FABRICACION DE AGUA PARA INYECTABLES

FABRICACION DE AGUA PARA INYECTABLES

Por definición, el agua para inyectables es agua purificada por destilación o por ósmosis Inversa, (7) que cumple las condiciones de pureza establecidas para el agua purificada para uso farmacéutico. Aunque no se exige que sea estéril, no debe contener más de 50 UFC por 100 mililitros (mesófilos aerobios). Cumple con la prueba para límite de endotoxina bacteriana. Debe ser producida, almacenada y distribuida bajo condiciones diseñadas para evitar la contaminación con endotoxina. (18)

Para la purificación del agua por destilación, se requiere que la materia prima sea agua previamente tratada para separar las impurezas que afectan a la eficiencia de la purificación o el equipo involucrado. De manera general, se establece que las impurezas a eliminar son: materia en suspensión, sales solubles y gases solubles. Dichos contaminantes pueden eliminarse por filtración, adsorción e intercambio iónico.

De acuerdo a lo anterior la obtención de agua para inyectables se puede dividir en tres secciones que conforman un proceso continuo: filtración, desmineralización y destilación. En la práctica, la filtración y la desmineralización se integran en una misma unidad de proceso que alimenta al destilador.

A continuación se mencionarán algunas características básicas y cuidados prácticos que requieren los equipos y el proceso.

FILTRACION Y DESMINERALIZACION

El "tren" de equipo está formado por columnas a presión equipadas con la tubería, válvulas y accesorios que permitan su operación, carga, descarga, higienización, muestreo y, en el caso de las resinas de intercambio iónico su regeneración. El diseño de estas columnas se basa en el flujo requerido, la cantidad de agua a tratar y la capacidad de las resinas y los filtros bajo las condiciones de operación. Comúnmente el tren de filtración y desmineralización está formado por:

- A) Una columna de filtro de arena.
- B) Una columna de carbón activado.
- C) Una columna de ablandamiento.
- D) Una columna de resina catiónica.
- E) Una columna de resina aniónica.

Las columnas de resinas aniónica y catiónica pueden ser substituídas por una columna de lecho mixto.

FILTRO DE ARENA: Está constituido por capas estratificadas de arena cuyo tamaño de partícula va disminuyendo a medida que se desciende hacia el fondo del filtro. La arena descansa sobre una doble plancha perforada en la cual va ubicado un retén de polvos finos (comunmente tela gruesa). La función de este filtro es eliminar la materia en suspensión. De acuerdo con el contenido de partículas en el agua de alimentación, será necesario lavar la arena cuando esté cercana a su saturación, pues en caso contrario el flujo de efluente disminuirá gradualmente. El lavado puede efectuarse en la misma columna, o en caso necesario, descargando el material para lavarlo fuera de la columna.

FILTRO DE CARBON: Se instala en forma semejante al filtro de arena, substituyendo ésta por carbón activado en forma granular. Su función consiste en absorber materia orgánica disuelta y fundamentalmente residuos de cloro y cloraminas de agua potabilizada con cloro, ya que estos compuestos degradan a las resinas catiónicas que se emplean en la desmineralización. Cuando se satura el carbón activado, la práctica común es desecharlo y substituirlo por una carga nueva. (4)

ABLANDAMIENTO: Sólo en los casos en que el agua de alimentación registra una 'dureza' significativa, conviene ablandarla previamente a la desmineralización. El Calcio y el Magnesio confieren 'dureza' al agua y originan la formación de precipitados laminares que forman capas de incrustación en las paredes de tuberías y equipos. Para eliminar o disminuir la dureza se emplean generalmente las zeolitas silíceas o carbonáceas, empacadas sobre una capa de grava y arena. Cuando se satura la capacidad de intercambio de las zeolitas se someten a regeneración con Cloruro de Sodio. El ablandamiento puede hacerse también con resinas de intercambio catiónico, con el inconveniente de un importante incremento en el costo de instalación y operación.

COLUMNAS DE INTERCAMBIO IONICO:

Consisten en tanques cilíndricos verticales, de acero inoxidable o acero al carbón, recubiertos por la parte interior con hule natural o polímeros plásticos sintéticos. Disponen de distribuidores en las partes superior e inferior, el

lecho de resina granular descansa sobre la malla del distribuidor del fondo de la columna. Cuando se satura la capacidad de intercambio de la resina se debe proceder a la regeneración (reactivación) de la misma. La frecuencia de las regeneraciones debe fijarse en la práctica de acuerdo con el consumo programado de agua desmineralizada, la calidad del agua de alimentación y la capacidad de intercambio de las resinas. La unidad está provista de una válvula múltiple o un juego de válvulas individuales que permiten alimentación:

- A) Por la parte inferior (para retrolavado).
- B) Por la parte superior (para operación normal).
- C) Para Inyección del regenerante.
- D) Para enjuague del exceso de regenerante (drenaje).

Se requiere un espacio libre sobre el nivel de la resina para permitir su desplazamiento durante el retrolavado. Generalmente este espacio es de 50% del volumen ocupado por la resina.

En un intercambiador de lecho mixto, en una misma columna están contenidas una resina aniónica y una resina catiónica mezcladas en la forma más completa posible. Para su regeneración, las resinas se separan por un retrolavado que deposita en la parte inferior a la resina catiónica, que es de mayor densidad y en la parte superior, a la aniónica que es más ligera. La unidad cuenta con un distribuidor de malla en el plano de interfase de las dos resinas; el distribuidor del fondo es también de malla para permitir la inyección eficiente de aire comprimido.

La función de las columnas de intercambio iónico es eliminar los iones presentes en el agua. Los cationes más comunes en el agua son : Calcio, Magnesio, Sodio, Potasio, Amonio, Hierro y Manganeso. los aniones más frecuentes son: Bicarbonato, Sulfato, Cloruro, Nitrato y Silicato.

Cuando el agua que contiene iones pasa a través de la columna catiónica, la resina retiene los cationes y el efluente llevará los ácidos correspondientes;

al pasar el efluente a través de la resina aniónica son retenidos los aniones de los ácidos, obteniéndose agua libre de iones contaminantes, aunque con gases disueltos.

El período de saturación de las resinas de intercambio iónico depende del contenido salino del agua de alimentación y se puede controlar por medio de un conductímetro, que registra en forma permanente la conductividad (o resistividad) del agua desmineralizada. El conductímetro puede estar conectado con una alarma luminosa y/o acústica que indicará el momento en que se alcanza el nivel mínimo de pureza prefijado.

Una vez saturada la capacidad de intercambio de las resinas se debe efectuar el tratamiento de regeneración. Este procedimiento básico consiste en:

- Retrolavado: Tiene como objetivo eliminar material extraño acumulado en la superficie de los gránulos de resina, así como partículas de resina finamente dividida. El retrolavado se lleva al cabo alimentando agua por el fondo de la columna y descargándolo por la parte superior hacia el drenaje general o algún sistema de

reciclaje para usos generales. El tiempo y velocidad de flujo en el retrolavado deben determinarse en la práctica de acuerdo a las condiciones de operación. Terminado el retrolavado se permite que se sedimente la resina.

- Reactivación o Regeneración: Su objetivo es desplazar a los iones capturados por las resinas, substituyéndolos por el ión originalmente presente en ellas. Las resinas catiónicas se regeneran con soluciones de ácido Clorhídrico al 5.0% y en una proporción de 4.5 litros de solución ácida por cada litro de resina contenida en la columna. Las resinas aniónicas se reactivan con soluciones de hidróxido de sodio de 5.0 a 10% y en proporción de 2 a 3 litros de solución por cada litro de resina. Cuando la alimentación de regenerante se hace por succión del flujo de la línea de agua, ("ventury"), se debe establecer la velocidad a la que se debe succionar el regenerante y la concentración del mismo para obtener la concentración requerida al mezclarse con el flujo de la línea de agua.

- Lavado o Enjuague: Se realiza para eliminar el exceso de regenerante que permanece en la columna. El sentido de la alimentación y eliminación del

agua es semejante al caso de la regeneración. para el lavado de las resinas es conveniente utilizar agua desmineralizada o destilada, de no ser así, la resina catiónica puede lavarse con agua común pero la resina aniónica deberá lavarse con agua descarbonizada, es decir, pasada a través de la columna catiónica ya reactivada. El lavado se realiza con un volumen de agua de 8 a 12 veces el volumen de la resina.

En el caso de la columna de lecho mixto, el retrolavado sirve al mismo tiempo para separar las resinas en dos capas. Los regenerantes se suministran simultáneamente con el álcali fluyendo hacia abajo a través de la resina aniónica y el ácido del fondo hacia arriba a través de la resina catiónica. El flujo de las soluciones regenerantes se confina mutuamente evitando su penetración a la otra resina y al mezclarse en la salida se neutralizan antes de descargarse al drenaje. Después del enjuague, las resinas se mezclan nuevamente por medio de agua y aire comprimido.

El procedimiento de regeneración requiere un tiempo de aproximadamente 3 horas, lo cual puede

significar un paro importante en la producción de agua si no se programa adecuadamente. La frecuencia de las regeneraciones debe fijarse en la práctica de acuerdo al consumo programado de agua desmineralizada, la calidad del agua de alimentación y la capacidad de los diversos componentes del 'tren' de filtración y desmineralización. (3)

La vida útil de una resina de intercambio iónico es de varios años en condiciones normales y debe reemplazarse cuando los gránulos se han fragmentado formando un polvo fino, o bien cuando adquiere la apariencia de un gel (debido a la ruptura de los enlaces entrecruzados del polímero).

Como medidas generales para obtener un mejor funcionamiento de las resinas y durante un mayor tiempo, se pueden mencionar:

- Asegurar que las resinas se distribuyan homogéneamente evitando la formación de canales, de esta forma el agua fluye a una velocidad uniforme y a través de toda la masa de resina. La presencia excesiva

de gases en el agua de alimentación puede provocar la formación de canales.

- Eliminar las Incrustaciones que a veces se forman cubriendo los gránulos de resina, y no se eliminan con el lavado rutinario, en este caso debe desalojarse la columna y lavar la resina hasta obtener resultados satisfactorios, o bien empacar la columna con resina nueva. Los residuos de aceites en el agua de proceso pueden causar este deterioro.

- Evitar la presencia de Cloro, Ozono u otros oxidantes que degradan a las resinas.

- Controlar la temperatura de operación, ya que a temperaturas mayores de 40 grados centígrados se acorta la vida útil de las resinas.

- Vigilar las condiciones microbiológicas de los lechos de resinas (especialmente las aniónicas por su contenido de nitrógeno), ya que son susceptibles de contaminación microbiana, al estar en contacto permanente con el agua que contiene materia orgánica solubilizada. Una vez producida la contaminación, el desarrollo microbiano aumenta con la consiguiente

contaminación de los efluentes, siendo de importancia la presencia de Pseudomonas sp. como frecuente contaminante de aguas desmineralizadas,

Se debe establecer un programa de descontaminación de los componentes del sistema de filtración-desmineralización con base en un estudio microbiológico de la carga microbiana en el agua de alimentación y su capacidad de contaminación en cada uno de los elementos de filtración y de intercambio iónico (4). Una vez establecida la periodicidad requerida para la descontaminación de cada sección de equipo, se debe seleccionar el procedimiento de esterilización adecuado. Las columnas de ablandamiento, de carbón y de resina catiónica, así como las tuberías y válvulas metálicas, pueden esterilizarse con vapor; el tiempo de exposición necesario y las presiones tolerables deben ser determinadas en la práctica. La eficiencia de la esterilización en los distintos puntos de los equipos puede comprobarse utilizando bioindicadores o cinta testigo para esterilización. Las resinas aniónicas son termolábiles y se hidrolizan si se les somete a tratamiento con vapor, por lo tanto, la columna de intercambio aniónico (y en su caso la columna de lecho mixto), pueden descontaminarse por

exposición a una solución de Formaldehído al 0.25% durante 4 horas, con el inconveniente de tener que practicar un meticuloso enjuague hasta asegurarse de eliminar todo el Formaldehído residual.

Aún cuando la concentración de impurezas en el agua desmineralizada es muy baja, debe quedar claro que contiene materia orgánica, gases disueltos, microorganismos y agentes pirogénicos.

DESTILACION

La obtención de agua destilada para uso farmacéutico debe utilizar como materia prima agua que previamente se ha filtrado y desmineralizado, lo cual mejora la calidad del destilado y reduce la frecuencia de la limpieza requerida en el sistema de destilación, misma que es necesaria para remover depósitos insolubles en las superficies de contacto entre el agua y el equipo. La eliminación previa de sales es esencial, ya que al hervir el agua, tanto el aire disuelto como el vapor de agua formarán aerosoles con las sales disueltas, que en forma de micelas viajarán a través del sistema y se recogerán en el destilado constituyendo una contaminación. El diseño del destilador debe incluir baffles y anillos que interceptan las micelas y las descargan permitiendo su arrastre de vuelta al alambique. Sin embargo, estas barreras no detienen a los pirógenos.

Al destilar agua con gases disueltos se obtiene un vapor cargado de oxígeno y gas carbónico que resulta muy corrosivo por oxidante y ácido, este vapor,

al entrar en contacto con los materiales del destilador disolverá pequeñas porciones contaminando al destilado. Por lo anterior, es recomendable la desgasificación inmediatamente antes de la destilación y de ser posible, dentro del mismo destilador.

De manera general, un destilador consiste de: un evaporador, una fuente de calor, una cámara de reflujo sobre el evaporador y un condensador.

Es claro que las características específicas de construcción de un destilador, así como sus especificaciones de proceso, determinarán la calidad del destilado obtenido. Entre los factores básicos se pueden mencionar los siguientes:

- El tamaño del evaporador debe ser suficientemente grande para permitir una velocidad de vapor baja, con el fin de reducir el atrapamiento de agua líquida, ya sea en forma de capa sobre burbujas de vapor, o como microgotas.

- Los baffles o deflectores (superficies de condensación) determinan la efectividad del refujo y deben diseñarse de acuerdo con la velocidad de vapor óptima para interceptar efectivamente las gotas de agua regresándolas al agua por destilar.

- La redisolución de impurezas volátiles en el destilado reduce la pureza del agua producida. Por lo tanto, las impurezas volátiles deben separarse eficientemente del vapor de agua y eliminarse por aspiración hacia el drenaje, o por ventilación hacia la atmósfera.

- El drenaje frecuente (purga) de los residuos del destilado durante la operación y al final de un ciclo de uso, reducirá el depósito de corrosión en el evaporador.

- Usualmente la fuente de calor más económica es el vapor, sin embargo, para destiladores pequeños pueden ser más prácticos los sistemas eléctricos o de gas.

- La instalación de una celda medidora de conductividad en la salida del destilado proporciona una medida continua de la calidad iónica del agua producida, la conexión a una válvula de drenaje o recirculación automática, permite la descarga de agua de baja calidad, evitando que ingrese al agua de almacenamiento.

Un tipo de destilador usado frecuentemente para la producción de agua de alta pureza en volúmenes industriales, es el destilador por compresión de vapor. El funcionamiento básico de este tipo de destiladores es como sigue:

Para iniciar el ciclo, el agua del evaporador se calienta hasta ebullición, el líquido atrapado en el vapor se separa en los deflectores, el vapor se conduce a un compresor donde la temperatura del vapor se eleva hasta aproximadamente 120 grados centígrados; el vapor sobrecalentado pasa entonces a la cámara de vapor del evaporador donde se condensa cediendo calor para evaporar nueva agua de alimentación, que circula por el interior de los tubos del evaporador. Una vez iniciado el

ciclo, sólo se requiere energía para la operación del compresor, por lo cual este método resulta un proceso muy eficiente, conservando la energía y disminuyendo el consumo de agua.

Recolección y distribución. - El agua para inyección debe utilizarse inmediatamente, sin embargo, en muchos casos es necesario reunir una cantidad determinada acumulando el agua destilada durante un cierto tiempo. Cuando es necesario almacenarla deben tomarse precauciones especiales para impedir la contaminación, tanto en el tanque de almacenamiento como en las tuberías de distribución. (5)

La salida del condensador del destilador debe conectarse directa y herméticamente al tanque de almacenamiento, todas las conexiones de entradas y salidas deben sellarse. La ventilación para permitir los cambios de presión durante el llenado y el vaciado del tanque, debe ser a través de un filtro que impida el paso de microorganismos y partículas contaminantes. Durante el período de almacenamiento, que no debe exceder de 24 horas, el agua debe mantenerse en condiciones que

Impidan el crecimiento de microorganismos. Esto puede lograrse por calentamiento a 80 grados centígrados, o por acción de luz ultravioleta por medio de un bulbo de Inmersión.

La distribución del agua desde el tanque de almacenamiento al punto de uso, debe hacerse por tubería de acero inoxidable con conexiones de tipo sanitario. Esta línea debe estar aislada de todas las otras tuberías, debe estar diseñada de forma que permita limpieza y esterilización adecuadas, a intervalos frecuentes, por medio de vapor o de soluciones germicidas, no debe tener recodos ni extremos "muertos" donde el agua se pueda estancar, ya que ésta nunca alcanzará la temperatura o concentración de germicidas requeridos para la esterilización. El agua suministrada a las áreas de fabricación debe estar en circulación continua.

Algunos estudios de cromatografía de líquidos de alta resolución, han demostrado que al aumentar la pureza del agua aumenta su carácter polar y por lo tanto su poder de disolución. Esta agua va a reaccionar con el recipiente que la contenga disolviendo

sus materiales y contaminándose con ellos. A continuación se muestran los resultados obtenidos empleando agua bidestilada con resistividad de 18 megohmios, almacenada en vidrio Pyrex .

CONTAMINANTE	CONCENTRACION INICIAL	DESPUES DE 2 SEMANAS
Zn	14	46
Pb	9	30
Cu	5	12
Fe	9	45
Al	10	102

Las cifras se reportan en partes por mil millones

CLARIFICACION

Por definición, el material particulado presente en inyectables consiste en sustancias extrañas no disueltas y móviles, que no sean burbujas de gases y que se encuentren presentes en forma no intencional en soluciones parenterales. Las soluciones inyectables deben estar esencialmente libres de partículas que puedan observarse por inspección visual.

De los estudios de partículas contaminantes en soluciones para uso parenteral, se concluye que no existe una solución sin partículas extrañas en suspensión y que cuando el tamaño de las mismas disminuye, generalmente corresponde con un número mayor. Existen evidencias de que estas partículas constituyen un riesgo potencial de embolias, trombosis y granulomas, especialmente si se administran por vía endovenosa o intraarterial. La reacción del organismo a las partículas inyectadas varía con el tamaño, la forma y la naturaleza química de las partículas; el lugar en que se ven ocluidas y la receptividad del hospedador. Las mayores

consecuencias patológicas parecen ser: bloqueo directo de capilares sanguíneos, microembolias por formación de coágulos, granulomas locales (resultantes de reacciones inflamatorias en el lugar de oclusión de una partícula en un tejido) y reacciones antigénicas. (17)

Los riesgos asociados con las partículas en suspensión han conducido a la búsqueda de técnicas y recursos para determinar su presencia, investigar su fuente de origen y procurar eliminar las causas de su producción, para disminuir o eliminar su presencia en el producto final. (16)

Los equipos, tuberías, recipientes y virtualmente todas las superficies en contacto con el agua, pueden aportar partículas contaminantes.

El método más eficiente para eliminar partículas en suspensión es la filtración. En el caso del agua destilada, la concentración de sólidos a separar es

sumamente baja, por lo cual la filtración se denomina clarificación o "pullido".

En procesos críticos de filtración, el éxito depende frecuentemente de sutiles diferencias en las características de los sistemas de filtración; por lo tanto, el responsable técnico del proceso debe conocer los conceptos fundamentales de dichos sistemas, así como sus diferencias y la forma en que éstas pueden afectar los resultados. (6)

Para filtrar líquidos hasta un estado ópticamente claro, eliminando partículas desde un tamaño submicrónico, hasta aproximadamente 100 micras, se emplean los métodos y medios filtrantes clasificados como microfiltración. Una partícula de aproximadamente 40 micras es el tamaño más pequeño que puede detectarse a simple vista por el ojo humano.

Los medios filtrantes microporosos pueden ser de superficie o de profundidad. Actualmente los más eficientes son las membranas sintéticas (filtros de

superficie), aunque se siguen empleando en algunos casos los materiales fibrosos (filtros de profundidad).

Ambos tipos de filtros ofrecen ventajas y limitaciones que pueden complementarse mutuamente cuando se usan combinados en un sistema de microfiltración. El filtro de profundidad generalmente se usa como prefiltro para prolongar la vida útil del filtro de membrana. La ventaja fundamental de este último es, que por tener un tamaño de poro definido y homogéneo, puede asegurar una retención cuantitativa o 'absoluta' de todas las partículas mayores que ese tamaño de poro.

A continuación se mencionan algunos conceptos de uso frecuente en los procesos de microfiltración: (8).

- Grado de filtración.- Se refiere a la relación entre el número de partículas mayores que un tamaño específico en el líquido por filtrar y el número de partículas semejantes en el filtrado.

- Grado de filtración nominal.- Se refiere a un valor micrométrico arbitrario, indicado por el fabricante del filtro, que señala el tamaño de partícula, por sobre el cual se retendrá un determinado porcentaje de partículas mayores que ese tamaño. La capacidad nominal se determina experimentalmente y por no ser reproducible no es un concepto útil para validación.

- Grado de filtración absoluta.- Se refiere al diámetro de la mayor partícula esférica dura, que pasará a través del filtro, bajo condiciones específicas de prueba. Esto constituye una medida indirecta del tamaño del poro más grande en el elemento filtrante y por lo tanto, de la seguridad de que ninguna partícula de tamaño mayor con la misma forma y dureza, pasará a través del filtro.

- Eficiencia.- Se refiere al peso de contaminante retenido por un filtro bajo condiciones específicas, dividido entre el peso del contaminante total introducido, expresando el resultado como porcentaje.

- Tamaño de poro.- Se refiere al tamaño promedio de los poros en el medio filtrante.

- Capacidad de caudal.- Es el volumen total de fluido que pasa a través de un filtro antes de que éste se obture. Se considera que un filtro está obturado cuando la presión diferencial a través del filtro alcanza un valor determinado.

- Caída de presión inicial limpia.- Se refiere a la diferencia de presión a través de un filtro limpio, a una velocidad de flujo específica para un fluido limpio determinado.

Los filtros de membrana están constituidos por una película de material sintético, formada por una mezcla pura, biológicamente inerte y con una amplia gama de compatibilidades químicas. los tipos más comunes de membranas microporosas son:

Membranas plásticas.- Son estructuras microporosas en forma de película muy delgada, de algún material polimérico (Generalmente ésteres de celulosa). El proceso de manufactura está patentado en la mayoría de los casos y consiste fundamentalmente en la evaporación

controlada de ciertos materiales volátiles de una solución del polímero, conforme una capa delgada de esta solución se lleva a través de una cámara con ambiente cuidadosamente controlado. La plastificación de la capa del polímero después de la evaporación, da como resultado una hoja delgada de aproximadamente 120 micras de espesor que tiene una estructura microporosa bien definida, con un volumen sólido muy bajo y un volumen poroso muy alto (en el orden de 80%).

Membranas de microfibramentos inorgánicos.- Están constituidas por un material microcristalino formado por filamentos inorgánicos de longitud y diámetro extremadamente homogéneos. Se fabrican por un proceso altamente preciso de dispersión, estructuración y unión de los microfibramentos inorgánicos. La estructura microporosa resultante es similar a una membrana de polímero plástico con algunas diferencias de orden práctico: La membrana de microfibramentos tiene puntos de unión entre los componentes que forman la estructura (fibramentos). La membrana de microfibramentos es más

gruesa que la plástica, este mayor grosor y su naturaleza inorgánica le confieren características ventajosas como mayor termorresistencia (que se traduce en mayor facilidad de esterilización), amplia compatibilidad química, mayor resistencia mecánica (por ejemplo, en el plegado para fabricar cartuchos), y costo menor que las membranas plásticas. La membrana de microfilamentos tiene una superficie áspera que la hace inaplicable en técnicas de observación al microscopio.

Membranas nucleares.- Es el único tipo de membrana filtrante que tiene poros de estructura rectilínea, éstos se aproximan más al concepto teórico de capilar que los de los otros tipos de membranas. Su proceso de manufactura es una perforación selectiva por ataque ácido sobre una película de policarbonato u otro polímero apropiado. La película se somete primero a un bombardeo con partículas nucleares en un reactor nuclear. Las partículas que pasan a través del material dejan rutas sensibilizadas que pueden entonces definirse selectivamente con un ataque ácido para formar la estructura microporosa, cuyos poros son prácticamente

cilíndricos. El número de poros es controlado por el tiempo de residencia de la película en el reactor y el diámetro de poro, por el tiempo de ataque ácido. La membrana resultante es extremadamente delgada, translúcida, muy resistente, y tiene una superficie totalmente lisa que la hace muy útil en trabajos de microscopía.

Los filtros de membrana se pueden emplear en forma de disco o en forma de cartucho. La elección de la configuración apropiada del filtro depende de la aplicación específica que se requiere. La diferencia fundamental consiste en que, un filtro de cartucho proporciona una velocidad de flujo mucho mayor que un filtro en forma de disco. La velocidad de flujo es directamente proporcional al área efectiva de filtración, e inversamente proporcional a la resistencia ofrecida por el medio filtrante. La cantidad y el tamaño de los contaminantes atrapados sobre la superficie del filtro afectan la cantidad de poros abiertos y consecuentemente disminuyen la velocidad de flujo. El tamaño de las partículas contaminantes constituye un factor característico, debido a que un poro se obtura de

manera más efectiva cuando la partícula tiene dimensiones iguales a las del poro.

Los filtros en forma de cartucho aprovechan más eficientemente el espacio disponible proporcionando una superficie de filtración varias veces superior a la que representa un filtro de disco. Un criterio práctico es utilizar la configuración de cartucho cuando el área de filtración requerida es igual o mayor de 0.45 m².

La estructura básica de un filtro de cartucho consiste en una o más hojas de membrana filtrante, un soporte cilíndrico interno, una cubierta externa y una tapa en cada extremo. Las capas de filtro (por ejemplo: un prefiltro, dos capas de membrana filtrante y una malla de drenaje), están dispuestas una sobre otra y plegadas en toda su longitud; los extremos de las hojas se encuentran unidos y sellados para formar un cilindro que ajusta en el espacio libre entre el soporte interno y la cubierta exterior. Los extremos superior e inferior están sellados a las tapas de la estructura. La disposición en pliegues da lugar a una gran área de filtración de aproximadamente 0.6 m² en un cartucho de 10 plegadas

de altura y 70 mm de diámetro. Las tapas selladas en los extremos se diseñan de forma que aseguran el ajuste a prueba de fugas, al instalarse en su portafiltros correspondiente. La filtración se efectúa desde la superficie externa hacia el centro, el cual está conectado herméticamente a la salida del portafiltro. Existe un gran número de variantes en el diseño de los cartuchos, manejándose distintos tipos de membranas, soportes, tamaños de poro, etc.

Las prácticas adecuadas de manufactura requieren que en la fabricación de productos parenterales se empleen filtros que no desprendan partículas que contaminen los efluentes. Los filtros libres de migración de partículas no deben incluir en su estructura fibras de asbesto ni de vidrio.

Es importante establecer la diferencia entre partículas o fibras que pueden estar presentes en los efluentes iniciales de los filtros de membrana nuevos y el fenómeno de migración del medio. El primero es resultado de los residuos producidos durante la fabricación del filtro y deben ser eliminados por medio de un lavado

adecuado; el segundo es un fenómeno continuo a través de la vida del filtro y representa una degradación del medio filtrante, o bien filtros que están deficientemente unidos o sellados. El sistema óptimo de filtración para una línea de producción específica, será aquel que obtenga la mayor cantidad de producto con la calidad requerida y al más bajo costo de operación.

El diseño de un sistema de microfiltración para volúmenes industriales, se basa en los parámetros característicos de los filtros microporos: (7)

- A) Tamaño de poro apropiado.
- B) Compatibilidad química.
- C) Termorresistencia.
- D) Área de filtración adecuada.
- E) Presión de trabajo eficiente.

Ya que ningún método de limpieza puede asegurar una tubería absolutamente libre de partículas, el sistema de filtración debe ubicarse en el punto más cercano posible al lugar de uso del filtrado.

Como actividad Inicial Indispensable se deben conocer lo más ampliamente posible las características de la operación a efectuar:

A) Si se trata de una filtración continua o por lote (tamaño del lote).

B) Carga, tamaño y naturaleza de las partículas en el agua a filtrar.

C) Tamaños de poro que se requieren para retener las partículas.

D) Flujo deseado de agua filtrada.

E) Presión de entrada y máxima presión diferencial aceptable.

F) Temperatura del agua.

G) Tipo de conexiones de entrada y salida.

Una vez establecidas las características básicas de la operación, se pueden fijar las características específicas de los componentes, como se sugiere a continuación:

- Selección del material filtrante compatible química y térmicamente con las condiciones del agua por filtrar.

- Selección del tamaño de poro apropiado para el filtro y el prefiltro, considerando la posibilidad de filtración en serie, que consiste en una secuencia de filtros cuyo tamaño de poro va decreciendo progresivamente (cada filtro elimina la mayor parte de los sólidos que con mayor probabilidad obturarían el filtro que le sigue). A través de todo el sistema se obtiene un incremento en la capacidad de caudal, el último filtro debe ser de tipo absoluto, generalmente con tamaño de poro de 1.2 micras.

- Selección del área de filtración: Se establece de acuerdo con el material y tamaño de poro

seleccionados, la presión diferencial y el flujo deseado en el proceso.

- Selección del portafiltro: Este debe proporcionar el área efectiva de filtración requerida y adecuarse a las demás características del sistema. El área efectiva de filtración de dos o más portafiltros es aditiva en paralelo. Es conveniente verificar que el intervalo de flujo calculado para el sistema sea similar al reportado para el portafiltro seleccionado.

- Selección del filtro específico requerido: conociendo el tamaño de portafiltro, el material filtrante y el tamaño de poro, puede determinarse el filtro requerido de acuerdo al catálogo del fabricante.

- Selección de accesorios: Las conexiones de entrada y salida, adaptadores, conectores, manómetros, sellos, etc. permiten completar el sistema de filtración y acoplarlo al resto del sistema de producción.

El sistema de filtración debe permitir una limpieza completa y garantizar su esterilización por vapor o

con germicidas. Los programas y procedimientos de limpieza y esterilización deben establecerse de acuerdo con los ciclos de producción.

Algunos cartuchos filtrantes pueden esterilizarse por vapor en el mismo sistema; algunos otros es necesario demontarlos y esterilizarlos en autoclave bajo el procedimiento correspondiente para evitar su recontaminación al volverlos a instalar. Los cartuchos que no resisten altas temperaturas pueden ser esterilizados por otros métodos aprobados (generalmente con Oxido de Etileno).

La integridad del sistema debe probarse antes y después de cada ciclo de operación, por medio de las pruebas de integridad aplicables a los filtros de membrana. generalmente se emplea la prueba de punto de burbuja.

La efectividad del sistema de filtración depende tanto de la eficiencia del filtro mismo, como de la selección apropiada del portafiltro que contiene el

cartucho. Los parámetros que deben tomarse en cuenta incluyen: (9)

- A) La capacidad de flujo.
- B) El material de construcción.
- C) El material y diseño de los sellos.
- D) El acabado de las superficies.
- E) El ajuste con el cartucho.
- F) El tipo de conexiones de entrada y salida.
- G) EL número y posición de las válvulas (ventilación, drenaje, prueba de integridad).
- H) La facilidad de limpieza.
- I) La facilidad de esterilización.

J) La facilidad para instalar y desmontar el filtro, etc.

FILTRACION PARA ESTERILIZACION

Por definición, el agua inyectable es agua para la fabricación de inyectables que se ha esterilizado y envasado y a la que no se le han agregado agentes antimicrobianos u otras sustancias. Se destina principalmente para uso como disolvente en productos parenterales como los sólidos estériles, que deben distribuirse secos debido a la limitada estabilidad de sus soluciones.

El agua obtenida por destilación puede considerarse estéril porque no contiene microorganismos viables; sin embargo, las células muertas permanecen en ella como contaminantes. Adicionalmente se presenta el riesgo de contaminación como resultado de falta de hermeticidad en los sistemas de enfriamiento, almacenamiento y distribución. La flora del agua destilada contaminada es usualmente de bacterias gram-negativas; los microorganismos pueden ingresar al sistema por cualquier acceso tal como una válvula, un medidor de flujo, etc.

La calidad en el producto final puede alcanzarse solamente cuando el proceso de producción completo se lleva al cabo con la más alta limpieza alcanzable. La filtración esterilizante en cualquier lugar que pudiera haber entrada de microorganismos al sistema, asegura que la carga microbiana permanecerá en los límites establecidos.

La operación de filtración esterilizante corresponde al momento en que el agua pasa de un área de fabricación limpia a un área aséptica.

Los microorganismos en suspensión se comportan como partículas cargadas y pueden, por lo tanto, eliminarse por los mismos métodos que cualquier otra partícula de tamaño y/o carga similares.

La esterilización por filtración cumple el objetivo de eliminar microorganismos viables en el fluido filtrado. Los procedimientos de filtración comunes actualmente utilizan filtros de membrana con tamaño de poro de 0.22 ó 0.45 micras, los cuales no son capaces de

retener partículas en el intervalo de tamaño representado por los virus. Los medios de filtración más sofisticados como la ultrafiltración y la ósmosis inversa se suponen útiles para eliminar virus y partículas pirogénicas.

Los filtros de membrana de grado esterilizante instalados después de los prefiltros adecuados, recogen las bacterias, hongos y partículas del agua inmediatamente antes de su llenado en área aséptica. La casi totalidad del atrapamiento de partículas se lleva a cabo en la superficie de la membrana y el estrecho intervalo de distribución del tamaño de poro proporciona la máxima certeza de retención bacteriana.

Los sistemas de filtros de disco aún se encuentran en uso en unidades múltiples que colocan varios discos en paralelo (por ejemplo, con varios discos de 293 mm de diámetro en un sólo portafiltros, se alcanzan hasta 1.6 m² de área filtrante). Estos sistemas tienen el inconveniente de requerir un tiempo considerable para su armado y desarmado; además, cada disco tiene un gran sello en forma de anillo que puede presentar (cualquiera de ellos) fallas por asentamiento inadecuado.

Los sistemas de cartucho se emplean con ventaja debido a su gran superficie de filtración que permite que un área de hasta 2.1 m² pueda utilizarse en un portafiltro de 75 cm de longitud, el cual se arma en sólo unos minutos y proporciona mayor seguridad en el sello, que generalmente es uno sólo y de tamaño mucho más pequeño que el de un disco.

El sistema de filtración, ya sea de disco o de cartucho, debe esterilizarse previamente por medio de autoclave o por corriente de vapor en su lugar de instalación. Cuando el sistema se esteriliza en autoclave el procedimiento usual consiste básicamente en la localización de los puntos "fríos" del sistema filtrante durante el ciclo del autoclave (generalmente estos puntos son el interior de las tuberías y las superficies enjuagadas con agua); una vez conocidos los puntos fríos se establece el ciclo de esterilización colocando en ellos los termopares de registro de temperatura; se colocan también tiras de esporas en las mismas posiciones. Se realiza el ciclo registrando y comprobando las temperaturas alcanzadas; las tiras de esporas se recuperan y se someten a cultivo

microbiológico para comprobar su destrucción. Generalmente se establece un tiempo de esterilización mínimo de 8 minutos continuos a la temperatura letal (121 grados centígrados). (9)

Para la esterilización de cartuchos en su lugar de instalación, el procedimiento básico es el siguiente: los portafilros deben estar orientados con la entrada hacia arriba (otras orientaciones requieren tiempos más largos). Se suministra alimentación de vapor por ambos lados de la membrana; es necesario que haya drenajes en ambos lados del portafilro para separar el condensado, ya que éste actúa como amortiguador térmico. Se señala un tiempo de 45 minutos, a la temperatura letal, para la esterilización estandarizada de cartuchos de 10 pulgadas de longitud. Un aspecto importante, es que aparentemente los cartuchos deben estar secos para alcanzar la esterilización, en contraste con la esterilización en autoclave, donde pueden utilizarse filtros húmedos; la diferencia puede atribuirse a la aplicación del vacío que ocurre en el inicio del ciclo del autoclave.

Un filtro debe demostrar su capacidad para efectuar la función para la cual fue asignado en el proceso. Los filtros de grado esterilizante deben ser capaces de retener la biocarga normalmente presente en el fluido. Esta demostración puede llevarse a cabo por una prueba de funcionamiento o bien por una prueba de reto microbiano. Una biocarga considerada normal está en el orden de 10^7 ó 10^8 unidades formadoras de colonias; por cada mil litros.

Prueba de funcionamiento:

Un medio de cultivo líquido de soya tripticasina se expone al ambiente del área de fabricación; se permite el desarrollo microbiano y se efectúa la filtración esterilizante en la forma acostumbrada; se recogen muestras del tanque de alimentación y de la sección no estéril del filtro; el filtrado debe ser estéril.

Prueba de reto microbiano:

Esta prueba se realiza retando cada centímetro cuadrado de membrana filtrante, con 10^7 UFC

de Pseudomonas diminuta (ATCC 19146) cultivadas en caldo salino-lactosa a 30 grados centígrados por aproximadamente 40 horas (fase estacionaria). En estas condiciones se obtienen microorganismos más pequeños que en la fase logarítmica, tales microorganismos pasarán a través de una membrana de 0.45 micras, pero no de una de 0.22 micras. El filtrado final debe ser estéril. La prueba correspondiente para un filtro de membrana de 0.45 micras se realiza con un cultivo que contiene 10^7 - UFC de Serratia marcescens, por cada centímetro cuadrado de superficie filtrante. (10)

Evidentemente, las pruebas de desafío con microorganismos son más rigurosas que las pruebas de funcionamiento, sin embargo, presentan el inconveniente de introducir flora extraña al ambiente del área de fabricación.

Para asegurar la capacidad funcional de un sistema filtrante con filtro de membrana, es necesario efectuar pruebas de Integridad previas y posteriores a cada ciclo de operación. Las pruebas más comunes son las de difusión y de punto de burbuja.

Cuando una membrana filtrante se humedece, generalmente con agua o solución salina, el aire se desplaza de los poros del filtro y éstos se convierten en una serie de canales continuos de agua que conectan ambos lados del filtro.

Prueba de punto de burbuja:

Se basa en el hecho de que el líquido, contenido en los canales continuos del filtro humedecido, se encuentra retenido por efecto de la tensión superficial. En estas condiciones, la presión mínima para forzar al líquido a salir del espacio capilar, está en función del diámetro del capilar de acuerdo con la siguiente ecuación:

$$P = \frac{4T \cos \theta}{D}$$

Donde:

P = Presión del punto de burbuja

T = Tensión superficial

θ = Angulo de contacto líquido-sólido

D = Diámetro del poro

K = Factor de corrección de forma

Una prueba de punto de burbuja se efectúa humedeciendo el filtro y aplicando gas a presión en la parte no estéril del sistema. Conforme se aumenta lentamente la presión del gas, en algún momento éste desalojará el líquido del poro con mayor diámetro, lo cual se observará en forma de burbujas si la descarga del filtro se conecta a un tubo sumergido en agua. La presión a la cual es expulsado el líquido de los poros más grandes se llama punto de burbuja; un punto de burbuja significativamente más bajo que el especificado para un filtro en particular puede indicar una membrana dañada, sellos Ineficientes, fuga en el sistema, o un líquido con una tensión superficial menor que la del agua. Un punto de burbuja que concuerda con el especificado, es indicativo de la integridad del sistema.

Prueba de Difusión:

Cuando un gas a presión se aplica a la parte superior del filtro, una porción del gas entra en solución en

el líquido y se difunde a través de él hacia el lado de baja presión. La velocidad de flujo del gas a través del filtro húmedo es una función de:

La porosidad del filtro (la cantidad de líquido que puede contener el filtro.)

El grosor del filtro (la distancia a través de la cual difundirá el gas).

La presión diferencial del gas a través del filtro (el gradiente que dirige la difusión del gas).

La solubilidad del gas en el líquido.

En sistemas de gran tamaño donde una gran cantidad de agua debe desplazarse antes de que puedan detectarse burbujas, se puede efectuar una prueba de difusión en lugar de una prueba de punto de burbuja.

Aplicando una presión de 80% del punto de burbuja del filtro, se determina el flujo del gas midiendo el

volumen de agua desplazada. La aplicación de una presión del 80% del punto de burbuja, asegura la integridad del filtro, ya que habría un notable incremento en el flujo del gas si existiera un punto de falla en el sistema. El intervalo de difusión gaseosa no proporciona información acerca del tamaño de poro a menos que se conozca la presión de punto de burbuja.

Evidentemente, un filtro de grado esterilizante debe cumplir además de la prueba de integridad todas las demás características ya establecidas para un filtro de membrana eficiente, por lo tanto todos los filtros deben analizarse por extracción para determinar si eluyen materiales tóxicos o partículas. Se ha observado liberación de partículas en filtros de disco, y los filtros de cartucho muy raramente desprenden partículas debido a que se lavan y se prueban antes de empacarse.

Las guías de validación proporcionadas por los fabricantes de filtros contienen datos de características tales como: migración de partículas y compuestos solubles, compatibilidad química, resistencia térmica, etc. Sin embargo, generalmente no proporcionan información útil

para la validación de la esterilización de estos filtros dentro de sus portafiltros. A partir de la aceptación y popularidad de los métodos de esterilización en el lugar de instalación, la validación de los portafiltros ha incrementado su importancia. (9).

PIROGENOS Y DESPIROGENIZACION

Desde el inicio de la terapia por vía parenteral se conoce el problema de la reacción febril, que puede alcanzar niveles de gravedad y se acompaña de otros efectos como: respiración deficiente, cianosis, dolor de cabeza, sudor intenso, escalofrío, náuseas, vasodilatación, diarrea y leucopenia. Esta reacción febril se debe a la presencia en la solución inyectada, de contaminantes que se denominan pirógenos.

Los pirógenos pueden encontrarse en aire, agua y superficies sólidas y pueden ser contaminantes de tipo físico, químico o microbiano. Los pirógenos importantes para los procesos de manufactura farmacéuticos son las endotoxinas microbianas. Estas, son una familia de lipopolisacáridos que se encuentran en la membrana externa de la gran mayoría de las bacterias gram-negativas, tanto viables como muertas. La endotoxina está formada por tres regiones químicas distintas: la parte interna es un lípido (llamado lípido A) que se une a una porción central de polisacárido que a su vez se une a

prolongaciones largas en forma de látigo que son las cadenas laterales de antígeno O.

La pirogenicidad y la mayoría de las demás actividades biológicas de la endotoxina las induce el lípido A, que está formado por un disacárido de glucosamina altamente sustituido con ácidos grasos de cadena larga, por medio de enlaces amida o éster; la separación de residuos de ácido graso unidos por enlace tipo éster, afecta la actividad biológica del lípido A y causa una marcada reducción en la pirogenicidad. (11)

El estado de agregación (peso molecular) de la endotoxina es crítico para su actividad biológica, la pirogenicidad está en relación inversa con su estado de agregación, es decir, mientras más disgregado se encuentra el lipopolisacárido, mayor es su pirogenicidad. La agregación de la endotoxina la determinan dos factores: las interacciones de la porción lipídica A, que dan como resultado agregamientos de mayor peso molecular y las características electrostáticas de grupos fosfato y carboxilo de la molécula. En estas condiciones, las sustancias que reduzcan la tensión superficial o quelaten

cationes divalentes, disminuirán el tamaño de los agregados de endotoxina.

En estado natural la endotoxina forma dobles capas o vesículas con tamaño en el orden de 100 nanómetros. Cuando se reducen preparaciones de endotoxina con un agente quelante o tensoactivo, aparecen subunidades en forma de barra cilíndrica, que tienen un peso molecular de aproximadamente 20,000 daltons, un diámetro de 8 a 12 angstroms y una longitud de 200 a 700 angstroms. La importancia de estas observaciones con respecto a la separación de pirógenos por medio de filtros microporosos o ultrafiltros, se ha aprovechado en estudios que muestran que las vesículas y dobles capas pueden pasar a través de un filtro de membrana de 0.22 micras, pero las retiene uno de 0.025 micras; las formas miceladas pasan a través de 0.025 micras pero las retiene un ultrafiltro de límite nominal de peso molecular (LNPM) de 1,000,000. Cuando a la endotoxina la reduce a su más pequeña subunidad un agente tensoactivo (desoxicolato de sodio), pasará a través de 1,000,000 (LNPM) pero será retenida por un filtro de 10,000 (LNPM).

El agua destilada es un medio poco propicio para la formación de pirógenos, en general se admite que el agua utilizada como máximo 6 horas después de producida no desarrolla pirogenicidad. Para lapsos mayores sin exceder 24 horas- puede conservarse a temperatura de 80 C o en recipientes provistos de lámparas de radiación ultravioleta (aunque con el riesgo de producción de Ozono). El agua destilada que contiene pirógenos no se despirogeniza por el ciclo de esterilización normal en autoclave.

El control de pirógenos puede ser un reto complejo que demanda procedimientos de validación y para situaciones particulares puede requerir estrategias múltiples de acuerdo con las condiciones de cada proceso y sus instalaciones.

El desarrollo del análisis de pirógenos con lisado de amebocitos de Limulus (LAL) permite la rápida y precisa detección de endotoxinas en la carga pirogénica del agua y es un efectivo verificador de la destrucción o eliminación de endotoxinas en la validación de los

procedimientos de despirogenización para controlar la contaminación por endotoxinas, en la fabricación de productos parenterales y evitar la pirogenicidad en el producto final. El LAL reacciona en presencia de cantidades mínimas de endotoxina para formar un gel firme por medio de un mecanismo enzimático; la enzima coagulante, las proteínas coagulables y los cofactores se encuentran presentes en el lisado, siendo la endotoxina el activador de la reacción.

Para lograr el control del nivel de pirógenos en el agua se pueden emplear procedimientos de dos tipos: Separar la endotoxina usando técnicas que aprovechan sus propiedades fisicoquímicas, o anular su toxicidad alterando enlaces químicos lábiles en la porción del lípido A.

La inactivación de endotoxinas puede lograrse por hidrólisis ácida o alcalina, por oxidación con Peróxido de Hidrógeno u Ozono, y por radiación ionizante. Estos procedimientos resultan consumidores de tiempo, cuidados y costo y han quedado en franca desventaja respecto a los métodos por filtración.

Los procedimientos para separación de endotoxinas del agua aprovechan diversos métodos de filtración:

ULTRAFILTRACION:

Las membranas de ultrafiltración se clasifican de acuerdo a límites de exclusión con base en peso molecular y su efectividad despirogenizante se debe a su capacidad de retención; en estas condiciones, las endotoxinas que exceden el límite de exclusión de peso molecular de una membrana se retienen en la superficie de ésta. el tamaño de la subunidad básica de endotoxina (la molécula de lipopolisacárido) es del orden de 10,000 a 20,000 daltons y puede, por lo tanto, separarse eficientemente de la solución por un ultrafiltro de 10,000 LNPM; sin embargo, la forma monomérica de endotoxina raramente se encuentra en agua destilada. Normalmente las moléculas de endotoxina se agregan en vesículas que se clasifican en pesos moleculares que van de 300,000 a 1,000,000 de daltons, por lo tanto, para aplicaciones

prácticas, membranas de LNPM de 100,000, pueden retener cantidades significativas de endotoxinas. (12)

El uso integral de la ultrafiltración como proceso de producción de agua estéril para inyectables se ha limitado en alguna medida por regulaciones oficiales, tales como la definición de agua para la fabricación de inyectables en la F.E.U.M., la cual especifica que ésta debe producirse por destilación o por ósmosis inversa. Sin embargo, la ultrafiltración como método para eliminar pirógenos se ha aplicado exitosamente en la producción de agua para inyectables y de un gran número de soluciones de fármacos para uso parenteral.

Comercialmente las membranas de ultrafiltración se presentan en forma de disco o de cartucho y se utilizan para la filtración final del agua después de la desmineralización, destilación, clarificación y esterilización. Los fabricantes ofrecen cartuchos de membranas con LNPM de 10,000 que eliminan por lo menos el 99.90% de pirógenos y materia orgánica en general con velocidad de flujo de 5 galones por minuto.

estas membranas son reusables y con una vida útil mayor de 1 año.

MEDIOS DE CARGA MODIFICADA:

La filtración de profundidad a través de filtros que contienen fibra de asbesto, se ha aplicado desde hace mucho tiempo para la retención de pirógenos. A pH mayor de 2.0, los agregados de endotoxina están cargados negativamente y se comportan como aniones, por lo que pueden ser separados en adsorbentes cargados catiónicamente, como el asbesto que presenta una superficie cargada positivamente a pH menor de 8.3.

A partir de la prohibición de la F.D.A. para el uso de asbesto en los procesos de manufactura de parenterales, se han desarrollado filtros de profundidad fabricados con materiales sintéticos. se encuentran en el mercado filtros microporosos de carga modificada que utilizan membranas de potencial Z positivo y se han usado exitosamente en la despirogenización de una amplia gama de soluciones parenterales.

Los medios de profundidad de carga modificada, combinan el efecto mecánico de filtración con la adsorción electrostática. El tratamiento químico aplicado a los materiales, coloca una capa de cargas positivas distribuidas en la superficie de la matriz del filtro, para la captura de partículas con carga negativa. La adsorción de endotoxina por la matriz del filtro depende de la interacción de las cargas del filtro y las de la endotoxina, y la fuerza de interacción la determina el grado de ionización en ambos componentes. Este grado de ionización se incrementa con el aumento de pH hasta alcanzar el máximo pKa del filtro. La máxima capacidad de adsorción de endotoxina parece presentarse a pH de 6.0.

Las membranas fabricadas con poliamidas (nylon) o de otros materiales con aminas unidas covalentemente a su superficie, adquieren carga positiva neta en solución acuosa con pH menor de 9.0 y adsorberán, por lo tanto, moléculas de endotoxina. Las membranas de ultrafiltración de carga modificada

combinan la retención en orden submicrónico y la adsorción electrostática.

CARBÓN ACTIVADO:

Otro método de despirogenización de soluciones es el que aprovecha la adsorción física de la endotoxina al carbón, particularmente al carbón activado; puede ser aplicado en un intervalo amplio de pH, pero su limitación radica en la dificultad para eliminar totalmente las trazas de carbón residual. Se ha utilizado un filtro sinterizado de carbón activado, que permite el proceso continuo de filtración de soluciones por medio de un diseño que combina la adsorción de endotoxina y el confinamiento del carbón en una estructura microporosa. El filtro puede reutilizarse cuando se somete a despirogenización por medio de calor seco.

Existen algunos métodos cromatográficos que aunque no se han utilizado a escala industrial, es deseable que su potencial para posterior aplicación se estudie y compare con otras alternativas para procesos

específicos de manufactura. A continuación se mencionan brevemente:

POLIMIXINA B-SEPHAROSA:

Algunos estudios han mostrado que este antibiótico catiónico puede anular la actividad biológica de las endotoxinas aparentemente por enlace estequiométrico con el lípido A del lipopolisacárido. Las columnas pueden regenerarse por elución con Desoxicolato de Sodio y mantienen su capacidad de enlace por lo menos durante 18 meses. Recientemente se han utilizado para despirogenizar Interferón.

HISTAMINA-SEPHAROSA:

La Histamina Inmovilizada en Sepharosa presenta una alta afinidad por pirógenos a temperatura elevada y baja fuerza iónica. Los resultados sugieren que 1.0 ml de adsorbente retiene hasta 0.9 mg de endotoxina.

ANTICUERPOS-SEPHAROSA:

Anticuerpos monoclonales o policlonales pueden acoplarse a una matriz adecuada para separar la endotoxina específica de una bacteria o la genérica de las bacterias gram-negativas comunes.

LAL-SEPHAROSA:

El lisado de amebocitos de Limulus puede acoplarse a esférulas de Sepharosa y usarse como columna de afinidad para aglutinar endotoxina aun en cantidades minúsculas.

INTERCAMBIO IONICO:

El filtro Ambergard desarrollado por Rohm and Haas Co., contiene una resina de intercambio aniónico, macrorreticular, de alta porosidad y gran tamaño de poro, constituida por Amonio cuaternario. Se ha reportado que el gran tamaño de poro permite que las

endotoxinas penetren en las cavidades y se adsorban electrostáticamente. (23)

LLENADO Y SELLADO

El eslabón más crítico en la cadena del proceso de manufactura de parenterales es el llenado aséptico. Aunque se acepta que el agua para inyectables pueda esterilizarse terminalmente en su envase final, lo deseable no es que los microorganismos se inactiven al final del proceso, sino que todos los pasos en la fabricación reduzcan o eliminen la posibilidad de contaminación en el producto final. (13)

El agua deberá transferirse desde un recipiente colector a los envases individuales de acuerdo con una dosis establecida. esta operación expone al producto al contacto con el equipo, el ambiente y las manipulaciones necesarias efectuadas por operarios. Durante el llenado se establecen los requerimientos más estrictos para evitar la contaminación, particularmente si el producto no se esterilizará posteriormente. bajo estas condiciones la operación se llama llenado aséptico.

Previamente al llenado, los materiales de envase deben haberse sometido a procedimientos de limpieza, esterilización y despirogenización, cada uno de los cuales requiere validación y control. Cualquier manipulación posterior durante el proceso de llenado involucra el riesgo de recontaminación.

El llenado se lleva a cabo en un cuarto aséptico o cuarto limpio con un área crítica, que es la región del cuarto de llenado en la cual los componentes se exponen al ambiente. Generalmente se provee protección adicional en esta área crítica por medio de un módulo de flujo laminar que proporciona aire laminar vertical desde el momento en que los componentes se exponen al ambiente hasta después de que el envase se ha taponado o sellado.

La naturaleza del llenado aséptico requiere indispensablemente de un programa de aseguramiento de la calidad, respecto a la esterilidad y al control de partículas, ya que éste es uno de los ejemplos más claros de como la calidad incorporada al producto, representa

la confianza que puede ponerse en los resultados. Los factores esenciales en este programa son los siguientes:

- A) Esterilidad y ausencia de pirógenos en el agua (producto) y los materiales de envase.
- B) Presión diferencial positiva en el área aséptica.
- C) Frecuencia de cambios de aire.
- D) Temperatura y humedad en el área aséptica.
- E) Niveles de microorganismos viables.
- F) Niveles de partículas no viables.
- G) Eficiencia de filtros HEPA.
- H) Patrones de distribución del aire.

I) Programas de limpieza y descontaminación del área aséptica.

J) Programas de limpieza y descontaminación de equipos y ropa de trabajo.

K) Entrenamiento del personal.

En un área aséptica, el nivel de partículas se establece como clase 100, esto es, no más de 100 partículas iguales o mayores a 0.5 micras por pie cúbico, efectuando la medición en el área crítica a un pie de altura respecto al nivel de la superficie de la mesa (banda) de llenado. El aire debe contener una incidencia menor a 1.0 microorganismo viable por 10 pies cúbicos (otros gases que se empleen en la operación deben cumplir las mismas especificaciones; adicionalmente, el aire comprimido debe estar libre de vapores y gotas de aceite). Toda el área aséptica debe tener una presión diferencial positiva de por lo menos 0.05 pulgadas de agua respecto a cualquier área adyacente. El aire suministrado al área aséptica debe ser filtrado a través de filtros de alta eficiencia contra partículas y el sistema debe contar con

equipo para controlar la presión, la temperatura y la humedad del aire.

El número de operarios dentro del área aséptica debe ser el mínimo requerido para desarrollar eficientemente las tareas indispensables, la influencia del personal en la calidad de los resultados de la operación es obvia, pero frecuentemente subestimada. Es claro que los errores humanos pueden dar como resultado productos defectuosos, potencialmente peligrosos para el paciente que los consuma. Es esencial que la selección y adiestramiento del personal se efectúen en forma ordenada y eficiente, frecuentemente una mala selección provoca que el operario se vea forzado a modificar su personalidad o habilidad, o bien que las operaciones se alteren de acuerdo a las características personales del operario. El entrenamiento debe llevarse al cabo en un programa de capacitación continua que resulte práctico y flexible para incorporar mejoras en el proceso o cambios en los materiales y en el equipo. El personal debe conocer los aspectos básicos, prácticos de la microbiología y las partículas contaminantes, para así comprender porqué la limpieza y la higiene son de esencial importancia. Esta

actitud de conciencia de la calidad puede alcanzarse solamente a través de una buena selección y capacitación del personal, no sólo en la forma de ejecutar las tareas asignadas, sino también en las razones que hacen crítica su función como operarios.

La mecanización en el proceso de llenado estéril representa la ventaja de disminuir la contaminación generada por operarios; sin embargo, deben tomarse en cuenta los efectos contaminantes de partículas de materiales, lubricantes y residuos acumulados que se desprenden de las partes móviles de las máquinas durante su funcionamiento. (13)

El diseño del equipo debe permitir su fácil y eficaz limpieza y esterilización, considerando los efectos corrosivos y erosivos de los agentes que se emplean para tales fines, con particular atención al material de sellos y empaques. Obviamente el acabado de las superficies debe ser no poroso, para evitar acumulación de partículas contaminantes.

Para su limpieza, el sistema de llenado debe desarmarse tanto como sea necesario para dar acceso a estructuras internas; todas las partes deben tallarse vigorosamente usando una solución detergente y poniendo especial atención en uniones (juntas), roscas y otras estructuras donde se puedan acumular residuos; una previa exposición a vapor ayudará a desalojar los residuos depositados en paredes de tanques, en tubos, en jeringas, etc. Las mangueras, los empaques y otros accesorios de materiales plásticos, pueden lavarse con procedimientos semejantes a los empleados para los tapones de hule. El paso final de la limpieza debe ser un enjuague exhaustivo con agua destilada o con agua para inyectables.

El equipo, incluyendo empaques y sellos, debe ser capaz de soportar las condiciones requeridas para la esterilización, no debe tener grietas ni aristas que no queden en contacto con el medio esterilizante. El equipo debe cerrar herméticamente o, en su caso sellarse para asegurar su condición estéril durante la operación.

Se acepta que una persona promedio, en reposo, libera por minuto aproximadamente 250,000

partículas mayores de 0.5 micras. La primera barrera para controlar esta contaminación en áreas de llenado aséptico es la ropa de trabajo del operario, esta ropa debe actuar como filtro para evitar la diseminación de las partículas y la tela de esta ropa debe tener un bajo nivel de generación de partículas. La tela de dacrón está hecha de una fibra continua lo que la hace esencialmente libre de partículas y en cuartos con aire acondicionado es aceptablemente confortable.

La operación de llenado puede llevarse al cabo por diferentes tipos de sistemas, existiendo diferentes opciones ya sea que se trate de frascos ampula o ampolletas. Los sistemas de desplazamiento positivo volumétrico y de llenado por peso neto, permiten llenados reproducibles con alta precisión aun bajo condiciones de cambios en la velocidad. Los mecanismos potencialmente liberadores de partículas pueden confinarse en gabinetes cerrados debajo de la estación de llenado. (16)

El envase lleno debe taponarse (frascos) o sellarse (ampolletas) en el segmento inmediatamente posterior a la estación de llenado.

TAPONADO DE FRASCOS:

Los tapones de hule deben ajustar en la boca del frasco en forma firme para asegurar un cierre hermético, pero no tan ajustado que dificulte su colocación. Un gran número de operaciones de llenado se vuelven laboriosas porque la colocación de los tapones se realiza a mano y no por la operación de llenado en sí misma.

SELLADO DE AMPOLLETAS:

El sellado se efectúa por fusión del vidrio con uno o más sopletes en un lugar prefijado del cuello de la ampolla, en combinación con una pinza que retrae el extremo sobrante.

ASPECTOS FUNDAMENTALES DE UN AREA ASEPTICA

Un área aséptica corresponde a un aire limpio, de clase 100, es decir, que contiene como máximo 100 partículas mayores o iguales a 0.5 micras por pie cúbico. Como dato de referencia podemos mencionar que se admite que el aire sin filtrar puede contener hasta 1.4 millones de partículas mayores de 0.3 micras por pie cúbico.

Una variada flora bacteriana vive en el aire sobre todo en áreas habitadas por seres vivos.

Para suministrar al área aséptica aire esencialmente libre de partículas y de microorganismos, se somete a un sistema de filtración que tiene como fase final un filtro de alta eficiencia para partículas en aire (HEPA) que es capaz de retener más del 99.9 por ciento de partículas mayores de 0.3 micras. El tratamiento del aire para acondicionar la temperatura y la humedad se realiza en un sistema accesorio a base de intercambiadores de

calor. El aire libre de partículas y microorganismos se introduce al área aséptica a través de ductos y difusores, creando una presión positiva que evita que el aire de zonas adyacentes se introduzca a través de puertas, grietas, etc. Dos parámetros fundamentales para el funcionamiento de las áreas asépticas son los que a continuación se mencionan:

Grado efectivo de ventilación: Es el tiempo requerido para que un cuarto alcance el desalojo del 99.0% de un contaminante.

Coefficiente de eficiencia de ventilación: Es el número de cambios de aire requeridos para alcanzar el 99.0% de desalojo de la contaminación.

El techo, las paredes y el piso del área aséptica deben ser lisos y sellados de manera que puedan no sólo lavarse, sino también higienizarse con germicidas líquidos o atomizados. En la medida de lo posible, los recipientes y equipo mecánico deben mantenerse fuera del área aséptica.

Los trabajos de mantenimiento del área, de sus equipos y de sus sistemas críticos deberán hacerse con base a un programa y por personal especialmente instruido y bajo la supervisión del responsable del área. Todos los materiales para el mantenimiento y limpieza deben seleccionarse de acuerdo con la eficiencia y las características requeridas para minimizar la contaminación por partículas y microorganismos.

Ya que el aire suministrado al área aséptica está esencialmente libre de contaminantes, es imperativo determinar las fuentes y rutas de contaminación al producto, para conocer la dirección en la cual deben enfocarse los esfuerzos para controlarlas. La contaminación generada por los operarios se revela como responsable de la casi totalidad de la contaminación impartida al producto final. (15)

Los parámetros que rigen la operación de los cuartos limpios parecen presentar confusiones en su aplicación práctica. A continuación se mencionan los conceptos señalados por el director de Ingeniería de una firma farmacéutica: (14)

Clasificación de aire limpio: Las clases 100; 10,000, etc. se definen como aire que tiene no más de 100, 10,000, 100,000, etc. partículas por pie cúbico teniendo tales partículas un tamaño igual o mayor a 0,5

La definición parece ser ambigua; hay considerable falta de acuerdo en su aplicación por factores tales como el lugar de las mediciones de la medición, la

En cuanto al lugar dónde efectuar la medición se tienen una serie de posibilidades: en la entrada del aire filtrado, en los retornos de salida a la altura de la línea de llenado, sobre la línea de llenado, etc. Los resultados para la medición, así como sus resultados, pueden ser distintos en cada uno de los lugares que

Clasificación de aire limpio: Las clases 100; 10,000, 100,000, etc. se definen como aire que tiene no más de 100, 10,000, 100,000, etc. partículas por pie cúbico teniendo tales partículas un tamaño igual o mayor a 0.5 micras.

Aunque la definición parece suficientemente simple, hay considerable falta de acuerdo en cuanto a su aplicación por factores tales como el lugar de la prueba, las condiciones de la medición, la frecuencia de las mediciones, etc.

En cuanto al lugar dónde efectuar la prueba se tienen una serie de posibilidades: en la entrada del aire filtrado, en los retornos de salida a la altura de la línea de llenado, sobre la línea de llenado, etc. Las circunstancias para la medición, así como sus resultados, pueden ser muy distintos en cada uno de los lugares que pudieran elegirse.

En cuanto a las condiciones de la medición, puede existir una diferencia notable entre las previas al inicio del llenado y las presentes durante la operación.

La frecuencia de las mediciones podría establecerse: al inicio de la operación, a la mitad y al final de la operación, o bien continuamente. En el caso de hacer más de una medición, no está establecido el criterio para el número de ellas que pudieran ser significativas en caso de cifras fuera de los límites establecidos.

La falta de acuerdo en los anteriores aspectos puede llevar a que cada empresa establezca los detalles en la medición para clasificar el aire en sus instalaciones; sin embargo, esto puede estar en desacuerdo con el criterio Individual de un Inspector o el criterio de las entidades reguladoras oficiales.

Una forma de buscar los criterios de medición sería basándose en los objetivos que se persiguen en los sistemas de aire limpio para fabricación de productos parenterales. Estos objetivos serían:

- Mantener la esterilidad para llenados asépticos.
- Evitar la pirogenicidad en productos con esterilización terminal.
- Evitar la contaminación por partículas en el producto final.

Esterilidad.- Debe reconocerse que la esterilidad no es un parámetro cuantificable; un envase individual es estéril o no lo es y por lo tanto, estamos realmente en la categoría de cero defectos. En estas condiciones todos los sistemas involucrados en el proceso deben calificarse/ validarse/ probarse; el sistema de aire es sólo un eslabón en esta cadena, el aire al salir del filtro debe ser continuamente clase 100 y el flujo de aire debe proveer un efecto limpiador en cualquier lugar donde exista la posibilidad de contaminación del producto o de sus componentes. En estas condiciones, el mayor riesgo para la esterilidad proviene de los operarios y entonces debe minimizarse el contacto o la proximidad del personal con los envases abiertos y el producto. Donde esto no sea

posible, son necesarias fuentes adicionales de aire para limpiar el ambiente de estas zonas específicas.

Pirogenicidad.- La pirogenicidad es un parámetro medible y por lo tanto, un producto puede contener pirógenos dentro de los límites establecidos y ser aceptable. Si los materiales y el producto están libres de pirógenos, entonces es muy poco probable que un producto llegue a ser rechazable por contaminación pirogénica proveniente de un área aséptica, esto es más válido aun si los envases llenos se esterilizan durante un tiempo razonable. Por lo tanto, es evidente que los sistemas de aire para productos con esterilización terminal no necesitan ser tan críticos como aquellos para productos con llenado aséptico final.

Partículas: La U.S.P. establece 10.0 micras como el menor tamaño de partículas especificadas como contaminante. Si las partículas que nos preocupan son mayores de 10.0 micras, porqué estamos clasificando nuestras áreas con mediciones de 0.5 micras?. (Esta última se relaciona con condiciones microbiológicas). Si en este aspecto la esterilidad no es el objetivo, entonces la

medición de partículas de 10.0 micras puede ser la apropiada.

COMENTARIOS

Los conceptos generales recopilados en este trabajo, pretenden servir para facilitar la comprensión a nivel operativo, de los programas específicos de Validación y Prácticas Adecuadas de Manufactura, que se establezcan para un sistema de producción de agua inyectable.

La validación y el control de sistemas de agua inyectable merecen una intensa cobertura dentro de un programa general de Aseguramiento de la Calidad, ya que estos sistemas requieren de un mantenimiento y vigilancia continuos que permitan evitar o detectar alguna desviación respecto a las especificaciones, en cualquier momento durante su operación.

Una de las situaciones más difíciles que se presentan en el control de un sistema de purificación de agua, es como reaccionar cuando un resultado de análisis muestra que el agua no cumple con las especificaciones. Generalmente una validación correcta y el cumplimiento

de las prácticas adecuadas de manufactura, se reflejan en la existencia previa de un procedimiento de operación específico para responder a un resultado fuera de especificaciones.

Durante la validación es fundamental determinar las lecturas correctas en toda la instrumentación, así como las biocargas típicas y los niveles progénicos en los diferentes puntos de muestreo. De la misma manera se pueden establecer las listas de parámetros y puntos de verificación para cada componente, así como los procedimientos de operación que deben aplicarse en el caso de presentarse una desviación.

Ya que los sistemas de purificación de agua contienen componentes que pueden permitir y aún favorecer el crecimiento microbiano, el control de la contaminación microbiológica representa un reto fundamental, mientras que la pureza química es relativamente fácil de alcanzar y controlar en un sistema que incluya los componentes adecuados.

La acumulación de microorganismos viables (biocapa), en las paredes de la tubería y de los equipos es de suma importancia y es necesario validar que el procedimiento de descontaminación sea capaz de impedir o eliminar cualquier formación de biocapa, sin dañar en forma significativa los materiales de la instalación.

Durante la validación del sistema es necesario validar también los métodos microbiológicos que se emplean para analizar el agua y los equipos.

Una vez realizada la validación del sistema, deben elaborarse los manuales para la operación, el mantenimiento y la limpieza de todo el equipo y los accesorios del sistema. También deben elaborarse los formatos para el registro de las actividades correspondientes de operación, mantenimiento y limpieza, tanto para situaciones de rutina, como para las acciones correctivas en el caso de disfunciones o descomposturas.

Para la etapa de producción rutinaria de agua inyectable, la estrategia de control debe aplicarse en forma preventiva, para lograr un correcto

funcionamiento del sistema. De esta manera, los problemas incipientes podrán detectarse antes de irrumpir en forma Incontrolable. Esta estrategia de control puede resumirse en tres reglas básicas: (20)

- 1) Conocer y entender el sistema.
- 2) Establecer un control eficiente para el sistema (planeado durante el diseño y la validación del mismo)
- 3) Establecer procedimientos específicos de operación para desviaciones eventuales en los parámetros de control.

La primera regla es probablemente la más importante, ya que para entender porqué funciona mal un sistema, es necesario saber primero cómo debe funcionar correctamente. El personal tiene obligación de conocer (a su correspondiente nivel) el porqué un componente dado está en el sistema de agua; es decir, cuál es su función, cuáles son los principios básicos de su operación y cuáles

los valores correctos de los parámetros que regulan a ese componente.

La segunda regla abarca el establecimiento de los parámetros normales para una vigilancia de rutina, así como un eficaz diseño de solución de problemas, partiendo de la certeza de que aun los sistemas diseñados adecuadamente, experimentarán desviaciones, siendo necesario prepararse para esas eventualidades.

La tercera regla establece la necesidad de seguir los procedimientos establecidos para los casos de desviaciones en el sistema. Esta regla puede parecer superflua a la luz de las dos primeras, sin embargo, en el trabajo cotidiano es frecuente que al ocurrir un problema, la reacción inicial de la persona responsable del sistema sea "actuar rápido", sin acudir al procedimiento de operación correspondiente. El objetivo de los procedimientos de operación para el caso de una disfunción del sistema, debe ser evitar mayores disturbios en los parámetros de operación del sistema, adicionales a los provocados por la fuente original del problema. (19)

La estrategia de control supone una adecuada instrumentación del sistema, para diagnosticar eficientemente una desviación en los parámetros especificados. Si un sistema carece de la instrumentación adecuada, es recomendable instalar los instrumentos necesarios y efectuar la revalidación correspondiente, ya que los costos de instrumentación y revalidación resultan modestos, cuando se comparan con el costo del retraso en la producción, causado por paros prolongados en el sistema de agua.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- Degremont (Editor)
Manual Técnico del Agua
Cuarta Edición (1979)

- 2.- Publication Management Control
Pty. Ltd.
Water And Waste Water
Treatment
Australia (1977)

- 3.- Helman, J.
Farmacotecnia Teórica y
Práctica
Cía. Editorial Continental, S.A. de
C.V. (1984)

- 4.- Burlingame, G.A. and Suffet, I.H.
Predominant Bacterial Genera in
Granular Activated Carbon
Water Treatment Systems.
Can J. Microbiol. 32/226-230
(1986)

- 5.- Collins, B.
Microbiological Control in Purified
Water Systems
Pharm, Eng. 7/3/17-20 (1987)

- 6.- Wakeman, R. and Gallagher, P.
Searching the Right Route for
Membrane Separations.
Processing Nov/51-54 (1987)

- 7.- Marz, F.; Scheer, R. and Graf, E.
Microbiological Aspects in the

Production of Water for Injection
by Reverse Osmosis.

Int. J. Pharm. 58/Jan/155 (1990)

- 8.- Nickolaus, N.
What, When and Why of
Cartridge Filters.
Filtration and Separation, Mar-
Apr/155-163 (1975)

- 9.- Chrai, S.
Validation of Filtration Systems:
Considerations for Selecting Filter
Housings.
Pharm. Technol 13/9/ 84-96 (1989)

10. Mac Donald, W.D.; Pelletter, C.A.
and Gasper, D.L. Practical
Methods for the Microbial

Validation of Sterilizing-grade
Filters Used in Aseptic Processing.
J.Parenter. Sci. Technol. 43/6/266-
270 (1989)

11.- Dawson, M.E. and Novitsky, T.J.
Microbes and Endotoxins.
Pharm. Eng. 8/2/9-12 (1988)

12.- Hou, K.C. and Zaniewski, R.
Depyrogenation by Endotoxin
Removal with Positively
Charged Depth Filter Cartridge
J.Parenter Sci. Technol 44/4/204-
209 (1990)

- 13.- Khan, S.
Automatic Flexible Aseptic Filling
and Freeze Drying of Parenteral
Drugs.
Pharm Technol. 13/10/24-34(1989)

14. Kladko, M.
Fundamentals of Clean Rooms.
Pharm. Technol. Conf. Sept/239-
246 (1981)

- 15.- Whyte, W. Bailey, P.V. and Tinkler,
J.
An Evaluation of the Routes of
Bacterial Contamination
Occurring During Aseptic
Pharmaceutical Manufacturing.
J. Parenter Sci. Technol. 36/3/102-
108 (1982)

- 16.- Gulse, B.
Parenteral Guidance.
Manuf. Chem. 60/4/24-27 (1989)
- 17.- Gallimberti, G.
Actualización sobre las Partículas
Extrañas en los Inyectables de
Pequeño Volumen.
Revista Mexicana de Ciencias
Farmacéuticas. 18/2/9-17 (1986)
- 18.- Phillips, J.X.
F.D.A. Inspections - What does
the Investigator Look for During
Inspections of Parenteral
Manufacturers.
Pharm. Eng. 9/5/35-38 (1989)

- 19.- Deborah, L. and Jackman, P.E.
Troubleshooting your
Pharmaceutical Water System.
Pharm. Eng. 8/22/22-28 (1988)

- 20.- Richards, J.W.
Introduction to Industrial
Sterilization.
Academic Press, London and
New York. (1968)

- 21.- Ansel, H.C.
Introduction to Pharmaceutical
Dosage Forms.
Lea and Febiger, Philadelphia,
(1985)

- 22.- Hugo, W.B. and Russell, E.D.
Pharmaceutical Microbiology.
Blackwell Scientific Publications,
London, (1977)
- 23.- Aseptic Pharmaceutical
Manufacturing Technology for
the 1990's.
Interpharm Press Inc., Praire
View, Ill., U.S.A. (1987)