

15
2 eje



**UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTONOMA DE MEXICO**



**FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN**

**PROPUESTA PARA LA VALIDACION DE UN
CICLO DE ESTERILIZACION POR VAPOR.**

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A :

LEYDI EDITH FERNANDEZ REYNOSO

ASESORES : Q.F.B. JOSE ANTONIO GARDUÑO ROSAS

Q.F.B. MA. DEL CARMEN AURORA NOGUEZ AMAYA

CUAUTITLAN IZCALLI, ESTADO DE MEXICO

1994

**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL
AVENIDA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLAN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTOS APROBATORIOS

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLAN



Departamento de
Exámenes Profesionales

DR. JAIME KELLER TORRES
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLAN
P R E S E N T E .

AT'N: Ing. Rafael Rodríguez Ceballos
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la F.E.S. - C.

Con base en el art. 28 del Reglamento General de Exámenes, nos permitimos comunicar a usted que revisamos la TESIS TITULADA:

Propuesta para la validación de un ciclo de esterilización
por vapor.

que presenta la pasante: Leydi Edith Fernández Reynoso
con número de cuentas 8553907-7 para obtener el TITULO de:
Química Farmacéutica Bióloga

Considerando que dicha tesis reúne los requisitos necesarios para ser discutida en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

A T E N T A M E N T E .

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuatitlán Izcalli, Edo. de Méx., a 18 de Abril de 1994

PRESIDENTE	<u>M.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez</u>
VOCAL	<u>D.A.B. Juan José Díaz Esquivel</u>
SECRETARIO	<u>PM en C. José Antonio Garduno Rojas</u>
PRIMER SUPLENTE	<u>Q.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera</u>
SEGUNDO SUPLENTE	<u>Q.F.B. David Quintanar Guerrero</u>

HONORABLE JURADO

PRESIDENTE

H.V.Z. Gerardo Cruz Jiménez.

VOCAL

D.A.R. Juan José Diaz Esquivel.

SECRETARIO

P.M. en C. José Antonio Garduño Rosas.

PRIMER SUPLENTE

Q.F.B. Guadalupe Rebollar Barrera.

SEGUNDO SUPLENTE

Q.F.B. David Quintanar Guerrero.

ASESORA EXTERNA

Q.F.B. Ma. del Carmen Aurora Noguez Amaya.

A MI FAMILIA

A mi esposo (Cusuhtémoc R. Becerra Escoto.) por nuestro amor y su apoyo.

A nuestro hijo David Becerra Fernández con todo mi amor.

A MIS PADRES

Lucía Reynoso Ahuatzi y Salvador Fernández Gómez.

Gracias por su amor y apoyo desinteresados.

A MIS HERMANOS

Demetrio Salvador y Fam.(Rebeca y Abigail).

María Lucía.

Armando.

A la memoria de la Q.F.I. Cristina Reyes Gonzáles. Por su entrega a la labor docente de esta universidad, su colaboración en esta tesis y su amistad.

Agradezco la valiosa asesoría (teórico-práctica) de la Q.F.B. Ma. del Carmen Aurora Noguez Amaya. Jefe del Dpto. de validación del laboratorio CHEMIA.

PROPUESTA PARA LA VALIDACION DE UN CICLO DE ESTERILIZACION POR VAPOR

CONTENIDO.

1. INTRODUCCION.
2. OBJETIVOS.
3. CONSIDERACIONES TEORICAS.
 - 3.1 Definiciones.
 - 3.2 Cinética de muerte microbiana.
 - 3.3 Enfoque de probabilidad de sobrevivencia.
 - 3.4 Enfoque de sobremuerte.
 - 3.5 Diseño del autoclave.
 - 3.6 Tipos de ciclos de esterilización por vapor.
 - 3.7 Fundamentos de calibración.
4. VALIDACION.
 - 4.1 Calibración de instrumentos de medición.
 - 4.1.1 Manómetro.
 - 4.1.2 Termómetro.
 - 4.1.3 Graficador.
 - 4.1.4 Cronómetro.
 - 4.1.5 Digistrip III (procesador multipunto).
 - 4.1.6 RTD (Detector de resistencia a la temperatura) y Monitor.
 - 4.2. Calificación de instalación del autoclave.
 - 4.3. Calificación de operación del autoclave.
 - 4.4. Estudios de distribución de calor (cámara sin carga).
 - 4.4.1 El procesador multipunto.
 - 4.4.2 Los termopares.

- 4.5. Estudios de distribución de calor (cámara sin carga).
 - 4.5.1 Definición de los parámetros del ciclo
 - 4.5.2 Procedimiento.
- 4.6 Estudios de distribución de calor (cámara con carga)
 - 4.6.1 Definición del patrón de carga
 - 4.6.2 Procedimiento
 - 4.6.3 Comparación con el estudio de cámara sin carga.
 - 4.6.4 Modificaciones al patrón de carga.
- 4.7. Estudios de penetración de calor (cámara con carga).
 - 4.7.1 Procedimiento
 - 4.7.2 Comparación con el estudio de distribución.
 - 4.7.3 Modificaciones al patrón de carga.
- 4.8. Estudios de microbiología.
 - 4.8.1 Estudios de biocarga .
 - 4.8.2 Aparatos para obtener datos de resistencia térmica.
 - 4.8.3 Estudios de laboratorio del valor D.
 - 4.8.4 Metodología para determinar el valor D.
 - 4.8.5 Estimación del valor D por curvas de sobrevivencia.
 - 4.8.6 Estimación de valor D por el método de fracción negativa.
 - 4.8.7 Determinación del valor Z.
 - 4.8.8 Suposiciones del valor Z.
 - 4.8.9 Uso de datos de biocarga, valores D y Z para calcular la probabilidad de sobrevivencia y el valor F mínimo requerido para la esterilización.
- 4.9 Corridas de validación con desafío microbiológico.
- 4.10 Tratamiento de valores teóricos.
 - 4.10.1 Especificaciones.
 - 4.10.2 Tratamiento estadístico de valores teóricos.

4.10.3 Emisión del reporte de validación.

4.10.4 Condiciones para la revalidación.

5. CONCLUSIONES.

6. BIBLIOGRAFIA.

Lista de FIGURAS.

No. 1	Curva de sobrevivencia logarítmica.	Pág. 12
No. 2	Curva de destrucción térmica pasando a través de un minuto a 250 °F (121 °C).	Pág. 12
No. 3	Curva para determinar el valor Z	Pág. 22
No. 4	Relación de la temperatura de la cámara y el tiempo.	Pág. 22
No. 5	Influencia del calor requerido para activación sobre caracteres de la curva de sobrevivencia.	Pág. 29
No. 6	Curva de sobrevivencia durante los primeros minutos cuando la velocidad de activación es igual a la velocidad de muerte.	Pág. 29
No. 7	Curva de sobrevivencia esperada cuando el cultivo consiste de dos cepas de diferente resistencia térmica.	Pág. 30
No. 8	Diagrama de un autoclave.	Pág. 37
No. 9	Diagrama de fases agua-vapor y línea de saturación.	Pág. 39
No. 10	Diagrama de ciclo con desplazamiento del aire por gravedad.	Pág. 44
No. 11	Diagrama de ciclo con desplazamiento del aire por vacío.	Pág. 44
No. 12	Cadena de trazabilidad.	Pág. 53
No. 13	Diagrama de un manómetro Bourdon.	Pág. 56
No. 14	Monitor de RTD, Ice Point (Punto de hielo) y HTR (referencia de alta temperatura).	Pág. 62
No. 15	Gráfica de ciclo de esterilización.	Pág. 70
No. 16	Tablero de control de autoclave.	Pág. 70

No. 17	Digistrip III.	Pág. 77
No. 18	Digistrip III (Tablero).	Pág. 79
No. 19	Hoja de programación del Digistrip III.	Pág. 83
No. 20	Termopares	Pág. 89
No. 21	Ubicación de termopares durante el estudio de distribución de calor (cámara sin carga).	Pág. 94
No. 22	Perfil de temperaturas máxima y mínima durante estudio de distribución de calor en cámara sin carga. Ciclo No. 1	Pág. 103
No. 23	Perfil de temperaturas máxima y mínima durante el estudio de distribución de calor en cámara sin carga. Ciclo No. 2	Pág. 104
No. 24	Perfil de temperaturas máxima y mínima durante el estudio de distribución de calor (cámara sin carga) Ciclo No. 3	Pág. 105
No. 25	Ubicación de la carga en la cámara.	Pág. 108
No. 26	Ubicación de un termopar dentro de un paquete de la carga.	Pág. 114
No. 27	Indicadores biológicos.	Pág. 131

Lista de TABLAS

No. I	Cálculo manual del valor F_0 .	Pág. 23
No. II	Hoja de calibración manómetro Bourdon.	Pág. 59
No. III	Calificación de operación Ciclo No. 1	Pág. 71
No. IV	Calificación de operación Ciclo No. 2	Pág. 72
No. V	Calificación de operación Ciclo No. 3	Pág. 73
No. VI	Características de algunos termopares.	Pág. 88
No. VII	Distribución de calor Ciclo No. 1	Pág. 95
No. VIII	Distribución de calor Ciclo No. 2	Pág. 97
No. IX	Distribución de calor Ciclo No. 3	Pág. 100
No. X	Ubicación de puntos frío y caliente	Pág. 106
No. XI	ANADEVA de calificación de operación	Pág. 140
No. XII	ANADEVA Distribución de calor.	Pág. 142

1. INTRODUCCION.

Este trabajo pretende ser una guía para los jóvenes profesionistas que tengan necesidad de introducirse a los fundamentos de la validación de procesos de esterilización por vapor. La propuesta que se presenta debe adaptarse a los procesos, equipos, productos y recursos de que se trate en cada caso; lo que sí debe resaltarse es el rigor que requiere la validación y la obtención de resultados satisfactorios antes de afirmar que un proceso se encuentra "bajo control".

La información que existe sobre el tema de la validación es muy amplia; sin embargo, cuando se trata el proceso de esterilización por vapor la información es más limitada y dispersa, por lo que se pensó agruparla y resumirla para formar una guía práctica y suficiente.

La validación es la obtención y documentación de suficiente evidencia para dar una seguridad razonable de que, dado el conocimiento actual de la ciencia, el proceso hace y hará aquello para lo cual fue diseñado. ¹

El interés por la validación surgió en los años 70's en los Estados Unidos y a partir de entonces ha evolucionado rápidamente por lo que no es extraño que en México se haya seguido con interés las discusiones y trabajos sobre el tema. ²

Actualmente, la Secretaría de Salud ha hecho obligatorias las actividades de validación y se ha ido más allá de los procesos al incluir los proveedores, técnicas analíticas, medios de cultivo, etc.^{3,4,5 y 6}

La validación de procesos se realiza principalmente por tres razones: 1) porque lo exige la autoridad sanitaria, 2) porque ayuda a las empresas a conservar y mejorar la calidad y 3) porque el proceso que esta validado es predecible y con ello es factible bajar los costos de producción. ¹

La validación de procesos de esterilización, tanto por calor seco como húmedo, implica obtener evidencia de que el proceso rinde productos estériles (ya sean materiales, uniformes o producto terminado), entendiéndolo la esterilidad en su concepto absoluto. Esto es que un producto es o no estéril, no puede ser "medio estéril" o "casi estéril".⁷

El proceso a seguir para lograr la evidencia de que se está logrando la esterilidad esta formado por varias etapas ,todas ellas importantes:

- 1) Calibración de instrumentos de medición, lo que permite tener confianza en las lecturas de las variables del proceso.

- 2) Calificación de instalación de equipo, que permite verificar que el equipo se encuentra instalado conforme fue diseñado por el fabricante y que no se han realizado modificaciones u omisiones que pongan en riesgo la efectividad del proceso.

- 3) Calificación de operación del equipo, que ayuda a asegurar que el equipo puede controlar las variables del proceso en forma apropiada y que responde a la manipulación de los controles.

4) Estudios de distribución de calor en cámara vacía, ayudan a establecer que la temperatura se distribuye y mantiene uniforme en todos los puntos del autoclave.

5) Estudios de distribución de calor en cámara con carga, permiten establecer que tanto afecta a la distribución del calor la presencia de la carga.

6) Estudios de penetración de calor, ayudan a asegurar que dentro de los paquetes a esterilizar se alcanza la temperatura deseada y en que tiempo.

7) Estudios microbiológicos que permitan garantizar que la cantidad de calor es suficiente para inactivar las cargas microbianas que se encuentren, aún cuando presenten resistencia al calor.

Todas las etapas mencionadas anteriormente son sucesivas y debe obtenerse un resultado apropiado antes de seguir con la siguiente, por ello, si se detectan irregularidades en alguna de las etapas, se puede esperar que en los ciclos de esterilización normales se presenten dichas irregularidades, lo que hace imperativo (para fines de validación y aseguramiento de calidad) detectar la fuente de error y corregirla.

2. OBJETIVOS.

2.1 OBJETIVOS GENERALES.

- Proponer una metodología para la validación del proceso de esterilización por vapor.
- Resumir los conceptos de la validación de procesos de esterilización por vapor.

2.2 OBJETIVOS PARTICULARES.

- Mostrar los criterios que satisfacen los enfoques usados en la esterilización.
- Resaltar la importancia de la secuencia a seguir en la validación
- Ejemplificar el cálculo de los valores D, F y Z. Tanto a partir de un gráfico como a partir de ecuaciones y demostrar su uso.
- Hacer incapié en la importancia de la línea de saturación del agua para controlar los parámetros del ciclo de esterilización.
- Mostrar el uso de algunos equipos empleados en la validación.
- Mostrar el tratamiento estadístico a los datos obtenidos.
- Conocer la importancia de los estudios de biocarga.
- Conocer los criterios para el uso de indicadores biológicos en la esterilización.

3. CONSIDERACIONES TEORICAS

3.1 Definiciones.

1. **Aseguramiento de la calidad:** Es la actividad de proporcionar a todos los involucrados la evidencia necesaria para establecer la confianza de que la función de calidad se está desarrollando adecuadamente. ⁸

2. **Calibración:** Es la demostración de que un instrumento de medición produce resultados dentro de los límites especificados respecto de los resultados que se obtienen con un estándar de referencia en un intervalo apropiado de medición. ⁸

3. **Calificación de instalación:** Es el establecimiento, por medio de los estudios apropiados, de la confianza en que el equipo del proceso y los sistemas auxiliares son capaces de operar consistentemente dentro de los límites y tolerancias establecidos. ⁹

4. **Calificación de operación:** Es la verificación documental de que el sistema o subsistema se desempeña conforme se pretende a través de intervalos operativos anticipados, para establecer la efectividad y reproductibilidad del proceso por medio de pruebas rigurosas. ¹⁴

5. **Ciclo de esterilización:** Es el proceso al que se somete un material a fin de ser esterilizado. Dependiendo del tipo de esterilización varían sus etapas; por ejemplo, en un autoclave se encuentran la fase de calentamiento, la fase de exposición y la fase de enfriamiento. En el ciclo de esterilización, se controlan las variables de proceso: presión, temperatura y tiempo.

6. **Desafío:** Es un conjunto de condiciones que incluyen los límites superior e inferior del proceso, incluyendo aquellos procedimientos operativos estándar, los cuales dan una gran oportunidad de que un proceso o producto salga de las condiciones ideales. Tales condiciones no necesariamente inducen falla en el producto o el proceso. ⁹

7. **Estado de control:** Una condición en la cual todos los parámetros del proceso que pueden afectar el desempeño del producto permanecen dentro de intervalos tales que el proceso se desempeñe consistentemente. ¹⁰

8. **Esterilidad:** Es la ausencia completa de vida. Es la ausencia de material vivo como puede demostrarse por crecimiento y reproducción. ⁷

9. **Función de calidad:** Es el conjunto total de actividades a partir de las cuales se obtienen productos listos para su empleo, sin importar donde se realicen esas actividades. ⁸

10. **HTR. Referencia de alta temperatura o (bloque patrón):** Equipo termostático que alcanza temperaturas elevadas (en la industria farmacéutica hasta 300°C) con fines de calibración de termopares y termómetros. ¹¹

11. **Indicador biológico:** Es un microorganismo empleado en la validación de procesos de esterilización con las siguientes características: una resistencia inherente al método de esterilización, una resistencia estable y reproducible al método de esterilización, una eficiente recuperación en el laboratorio después de la exposición al método de

esterilizado, no patógeno y, en el caso de esterilización por vapor, formación de esporas. Los indicadores biológicos comúnmente empleados en esterilización son *B. stearothermophilus*, *B. subtilis* var niger, etc. 13

12. Punto de Hielo "Ice point". Equipo termostático que ayuda a alcanzar la temperatura de 0.0°C y la mantiene indefinidamente con fines de calibración de termómetros y termopares. 11

13. Procesador multipunto: Digistrip III. Equipo al que se conectan los termopares y que traduce la señal de éstos a señales eléctricas (luminosa con exposición en pantalla o gráfica en papel) con ayuda de circuitos integrados de computación. Este equipo puede programarse a fin de monitorear y registrar las temperaturas a intervalos regulares de tiempo, calcular valores F_0 (Letalidad) y establecer cuando el ciclo ha terminado. 12

14. RTD. Detectores de Resistencia a la temperatura (o sensores): Son instrumentos de medición de temperatura fabricados con platino. Estos instrumentos son patrones primarios para la medición de temperatura debido a su gran exactitud en la medición y su reconocida precisión de hasta milésimas de grado centígrado. 11

15. Monitor de RTD: Equipo al que se conectan hasta tres sensores RTD y que traduce la señal del RTD a una señal eléctrica de ohms que se muestra en una pantalla y que puede transcribirse a temperatura con ayuda de una tabla de conversión que tiene cada RTD. 11

16. **Parámetros críticos del proceso:** Aquellos parámetros del proceso que se consideran importantes para que el producto cumpla con sus especificaciones. ¹⁰

17. **Patrón de carga:** Conjunto de materiales y/o productos que se van a introducir al autoclave con fines de esterilización. Incluye la identificación de los objetos, su cantidad y su ubicación específica dentro de la cámara del autoclave. Un patrón de carga una vez definido no puede cambiarse sin su oportuna validación.

18. **Protocolo de validación:** Es un plan prospectivo experimental que al realizarse nos dará la evidencia documentada de que el sistema o proceso está validado. Generalmente incluye una definición del sistema o proceso a validar, define las variables operativas y los parámetros de control así como los métodos a utilizar para realizar las pruebas y los criterios de aceptación de las variables. ⁸

19. **Intervalo operativo:** Es un intervalo de valores para un parámetro de proceso dado, que definen un valor máximo operativo y un valor mínimo operativo. Para el proceso de esterilización el valor mínimo operativo es 121.1 °C y el valor máximo es aquel que no dañe al producto. ¹⁰

20. **Reporte de validación:** Es un reporte científico de todos los resultados obtenidos de la ejecución del protocolo de validación. ⁸

21. **Revalidación.** Es la repetición de la validación de procesos o de una parte específica de la misma. ¹⁰

22. **Termopares:** Son sensores de temperatura simples, baratos y versátiles. Se fabrican por la unión de dos cables de metales diferentes. Los dos metales conducen la temperatura a velocidades diferentes, lo que genera una diferencia de potencial eléctrico y ello se utiliza para medir la temperatura. 11

23. **Validación:** Es el establecimiento de evidencia documentada la cual proporciona un alto grado de seguridad de que un proceso específico va a producir consistentemente un producto que cumpla sus especificaciones y atributos de calidad predeterminados (F.D.A.). 14

Validación: Es el método científico que proporciona la evidencia documental para demostrar la confiabilidad, reproducibilidad y efectividad de cualquier operación o proceso (el proceso se encuentra bajo control) (S.S.)

24. **Validación prospectiva:** Se refiere a comprobar a través de un plan Experimental denominado "Protocolo de Validación", que un proceso realiza lo que está destinado a hacer antes de comercializar el producto. 10,15

25. **Validación retrospectiva:** Es el establecimiento de evidencia documentada de que un proceso hace lo que está destinado a hacer basado en la revisión y análisis de información histórica. 10,15

26. Valor D: Es el intervalo de tiempo, bajo condiciones especificadas, requerido para reducir una población de esporas microbianas viables en un 90%. 8,16

27. Valor Fo: Es el tiempo equivalente, en minutos a 121°C, que ha pasado un producto en el proceso de esterilización a otra temperatura, asumiendo un valor de Z de 10°C. 17

28. Valor L. Letalidad: Es un valor derivado de la curva de muerte microbiana contra tiempo y se expresa como:

$$L = 10^{(tb-121)/Z}$$

donde tb es la temperatura del producto. 17

29. Valor Z: Es el gradiente de temperatura necesario para producir un cambio de 10 veces el valor D. Se obtiene como la pendiente de un gráfico del log del valor D como función de la temperatura. 17,18

3.2 Cinética de Muerte Microbiana.

Temperaturas ligeramente por arriba de la máxima que permite el crecimiento bacteriano causan la muerte de las células bacterianas vegetativas. Sin embargo, las esporas bacterianas, generalmente sobreviven a temperaturas más altas de aquellas que permiten la multiplicación de las formas vegetativas. Ya que las esporas bacterianas son más resistentes al calor, son el objetivo importante en la esterilización. 19

3.2.1 Orden de muerte.

Desde el punto de vista práctico, la definición del bacteriólogo de muerte bacteriana es muy satisfactoria; esto es, una bacteria está muerta cuando pierde su capacidad de reproducirse. Virtualmente, todos los estudios de muerte bacteriana han usado la incapacidad de reproducción como criterio de muerte. Los resultados de tales estudios han mostrado que, cuando las bacterias se someten a calor húmedo, la muerte expresada en términos de reducción de los individuos es usualmente muy ordenada. Generalmente, el número de células viables se reduce exponencialmente con el tiempo de exposición a una temperatura letal. Consecuentemente, si se traza una gráfica del log del número de sobrevivientes contra el tiempo de exposición, se obtiene una línea recta (ver la fig. 1). A esto se le llama comúnmente orden logarítmico de muerte. La literatura se encuentra repleta de evidencias en apoyo al orden logarítmico de muerte bacteriana. Se han presentado varias excepciones, pero muchas de ellas pueden representar ciertos eventos diferentes a la muerte bacteriana. Se discutirán posteriormente ciertas desviaciones y sus posibles causas. Por ahora es suficiente decir que

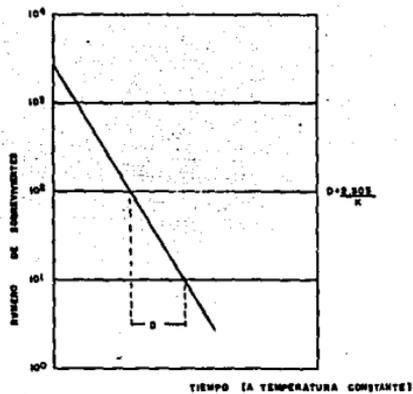


Fig. 1 CURVA DE SOBREVIVENCIA LOGARITMICA

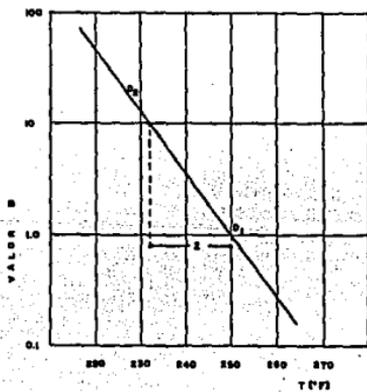


Fig. 2 CURVA DE DESTRUCCION TERMICA PASANDO A TRAVES DE 1 MINUTO A 250 °F (251°C)

Fig. 1 y 2

la evidencia global es que la muerte bacteriana es esencialmente logarítmica. 19

Se han ofrecido muchas explicaciones acerca del orden logarítmico de muerte bacteriana. Una de las más plausibles fue dada por Rahn, quien dijo que la pérdida del poder reproductivo de una célula bacteriana cuando se sometía a calor húmedo se debe a la desnaturalización de un gen esencial para la reproducción. Rahn razonó que, dado que la muerte bacteriana recuerda una reacción unimolecular o una reacción bimolecular de primer orden, la muerte de una célula puede deberse a la desnaturalización de una sola molécula: y, dado el tamaño de un gen es el tamaño de una pequeña molécula de proteína, un gen puede consistir de una o dos moléculas. 20

El conocimiento actual respecto del papel del DNA en la reproducción celular apoya la teoría de Rahn. El trabajo de Yoshikawa (1968) y otros indica que cada célula microbiana contiene dos moléculas de DNA. Wax (1963) propuso la tesis de que, en la desnaturalización de *Bacillus subtilis* por calor, se observa el efecto del mismo sobre el DNA y concluye su trabajo que el mecanismo de esterilización de una cierta cepa timina-dependiente de *B. subtilis* es probablemente un daño genético. 21,22

Este concepto de mecanismo simple de la esterilización es más atractivo para explicar adecuadamente la creencia, -predominantemente apoyada por evidencias experimentales,- de que la muerte de las bacterias cuando se someten a calor húmedo es generalmente logarítmico. Sin embargo, es dudoso que se pueda demostrar que un mecanismo simple pueda esterilizar

todos los organismos en un ambiente esterilizante. Es concebible que el agente letal, como el calor húmedo, pueda también dañar otras funciones celulares vitales, por ejemplo, la actividad enzimática. Al disminuir dicha actividad hará imposible la reproducción celular aún cuando el DNA no haya sufrido daño irreparable. La muerte bacteriana generalmente es logarítmica, siendo el daño genético el principal responsable -si no el único- de la pérdida de capacidad reproductiva.

El hecho de que las bacterias mueran en forma logarítmica nos permite calcular velocidades de muerte y obtener conclusiones a partir de ellas, las cuales son independientes de cualquier explicación. Las velocidades de muerte hacen posible la comparación de la resistencia al calor de diferentes especies a la misma temperatura o describir en términos cuantitativos el efecto de los factores ambientales, tales como concentración del medio o su pH, en la esterilización. ¹⁹

Dado que la muerte bacteriana generalmente es logarítmica, es conveniente considerarla así estrictamente y tomar las ligeras variaciones conforme se presenten. Considerarlo así, permite describir matemáticamente en la misma forma que una reacción química unimolecular o bimolecular de primer orden. En una reacción unimolecular sólo una sustancia reacciona y su velocidad de descomposición es directamente proporcional a su concentración (un ejemplo de este tipo de reacción es la descomposición del pentóxido de fósforo). En una reacción bimolecular de primer orden un reactivo se encuentra en gran exceso, la variación de su concentración es negativa y la velocidad de descomposición del segundo reactivo es directamente proporcional a su

concentración (la hidrólisis de la sacarosa es una reacción en la que el agua se encuentra en gran exceso). 19

Expresado matemáticamente:

$$- dC/dt = k C$$

o

$$- dC/C = k dt \quad (1)$$

donde:

C = concentración del reactivo que se descompone.

k = factor de proporcionalidad.

-dC/dt = velocidad a la cual la concentración decrece

Integrando la ecuación 1 entre límites, concentración C_1 al tiempo t_1 y concentración C_2 a tiempo t_2 , tendremos:

$$-\ln C_2 - (-\ln C_1) = k (t_2 - t_1).$$

$$k = \ln C_1 - \ln C_2 / t_2 - t_1 = 2.303/t_2 - t_1 \log C_1/C_2.$$

Esta última ecuación puede modificarse para dar:

$$k = 2.303/t \log C_0/C$$

o

$$t = 2.303/k \log C_0/C \quad (2)$$

donde:

C_0 = concentración inicial del reactivo.

C = concentración después de un tiempo de reacción t.

Para la curva de sobrevivencia (ver la fig. 1) dejemos que a represente el número inicial de células (es comparable a C_0 en la ec. 2) y b

representa el número de células sobrevivientes (comparable a C en la ecuación 2) después de un tiempo de calentamiento. Entonces:

$$t = 2.303/k \log a/b \quad (3)$$

En la fig. 1 se nota que el tiempo requerido para destruir el 90% de las células es el tiempo requerido para que la curva atraviese un ciclo logarítmico. Si este tiempo se representa por D (tiempo de reducción decimal), la pendiente de la curva de sobrevivencia puede expresarse como:

$$(\log a - \log b)/D = 1/D$$

Sustituyendo en la ecuación general de una recta.

$$y = mx + b$$

obtenemos:

$$\log a - \log b = 1/D t$$

o

$$t = D (\log a - \log b) = D \log a/b \quad (4)$$

en la cual:

t = tiempo de calentamiento.

D = tiempo requerido para destruir el 90% de células.

a = número inicial de células.

b = número de células después de un tiempo t.

Al comparar las ecuaciones 2 y 4, se hace obvio que.

$$D = 2.303/k$$

Y que ambos D y k representan la pendiente de la curva de sobrevivencia. D es el término más usado en la comparación de resistencias térmicas.

3.2.2 Curvas de destrucción térmica.

Las curvas de destrucción térmica (DT), a menudo son llamadas curvas de muerte térmica-tiempo, reflejan la resistencia relativa de las bacterias a diferentes temperaturas letales. Se construyen haciendo una gráfica de el log D o algún múltiplo de D, en las ordenadas contra la temperatura de exposición en la dirección de las abscisa (vea la fig. 2).

El termino Z, empleado en los métodos para calcular el proceso para cuantificar la resistencia relativa de un microorganismo a las diferentes temperaturas, es numéricamente igual al número de grados Fahrenheit requeridos para que la curva DT atravesase un ciclo de 1 log. Considerando cualquier porción de la curva, la pendiente de la curva puede expresarse como sigue:

$$(\log D_2 - \log D_1)/Z = 1/Z$$

Y la ecuación general de la curva DT se puede escribir convenientemente como sigue:

$$\log D_2 - \log D_1 = 1/Z (T_1 - T_2)$$

en la cual:

D₂ = Valor D correspondiente a la temperatura T₂ y el tiempo requerido para destruir el 90% de la población de células cuando se exponen a T₂.

D₁ = Valor D correspondiente a la temperatura T₁ y el tiempo requerido para destruir el 90% de la población de células cuando se exponen a T₁.

El valor D es una expresión cuantitativa simple de la velocidad de muerte microbiana. El valor D se refiere al tiempo requerido para

reducir la población microbiana original en un 90% (o reducción de 1 log) bajo condiciones o tratamientos específicos. El valor D puede calcularse de las curvas de sobrevivencia bacteriana como se muestra en la fig. 1. ⁸

De lo anterior se desprende que el tiempo para reducir la población bacteriana de 1000 células vivas a 100 es el valor D. El valor D es importante para la validación de procesos de esterilización a causa de las razones que se exponen a continuación:

1. Es una expresión cinética de cada organismo en un entorno específico sujeto a un tratamiento esterilizante específico. En otras palabras, el valor D se ve afectado por:

a) El tipo de microorganismo utilizado como indicador (siendo los indicadores biológicos los organismos vivos reconocidos como los más resistentes para el proceso de esterilización en particular).

b) Los componentes y características de la formulación (en caso de esterilizar productos terminados).

c) La superficie sobre la cual se exponen los microorganismos (vidrio, acero, plástico, goma, solución, etc.).

d) La dosis de calor aplicada (temperatura alcanzada y tiempo que se mantiene).

2. El conocimiento del valor D a diferentes temperaturas en la esterilización por calor es necesario para determinar el valor Z.

3. El valor D se utiliza en el cálculo del valor F.

4. La extrapolación del valor D a partir de valores de poblaciones bacterianas grandes a poblaciones menores permite predecir el número de reducciones logarítmicas en la población que se logran bajo determinadas condiciones.

Los valores D se determinan experimentalmente por dos métodos: el método de la curva de sobrevivencia o el método de la fracción negativa.

El método de la curva de sobrevivencia se basa en la gráfica del log del número de microorganismos sobrevivientes contra una variable independiente, tal como el tiempo.

El método de la fracción negativa utiliza muestras repetidas que contienen poblaciones de esporas idénticas tratadas de tal manera y determinando el número o fracción de muestras que continúan mostrando crecimiento bacteriano después del tratamiento e incubación. Los datos de fracción negativa se emplean principalmente para determinar los valores D de microorganismos expuestos a procesos de destrucción térmica. ⁸

Los datos obtenidos por el método de curva de sobrevivencia se exponen en gráficas semilogarítmicas. Los puntos en la gráfica se unen por un análisis de mínimos cuadrados. En muchos casos la ecuación resultante es la ecuación de velocidad de muerte de primer orden. ⁸

$$\log N = a + b t$$

donde N es el número de organismos sobrevivientes al tiempo t, a es el intercepto en el eje Y, y b es la pendiente de la línea determinada por regresión lineal. El valor D es el recíproco de la pendiente de la línea. ⁸

$$D = 1/b$$

3.2.3 Los valores Z y F

Estos términos se aplican exclusivamente a la validación de procesos de esterilización por calor. El valor Z es el recíproco de la pendiente resultante del gráfico del logaritmo del valor D contra la temperatura a la cual se obtuvo el valor D. El valor Z se puede simplificar como la temperatura requerida para una reducción de 1 log en el valor D. ^{8, 23}

$$Z = T_2 - T_1 / \text{Log } D_1 - \text{log } D_2$$

La fig 3 representa un gráfico de resistencia térmica para un valor Z = 10°C, el valor Z aceptado para la esterilización por vapor de *B. stearothermophilus* (el microorganismo más comúnmente utilizado como indicador biológico con reconocida resistencia térmica).

Estas gráficas son importantes ya que uno puede determinar el valor D del microorganismo indicador a cualquier temperatura de interés. Adicionalmente, la magnitud de la pendiente indica el grado de letalidad relativa conforme la temperatura se incrementa o baja.

La derivación matemática de la ecuación del valor Z permite el cálculo de una expresión simple cuantitativa para tiempos de exposición efectivos a la temperatura deseada para la esterilización. El valor F mide el tiempo equivalente, no tiempo de reloj, que el artículo monitoreado es expuesto a la temperatura deseada, por ejemplo a 121°C.

Los valores de F se calculan a partir de la siguiente ecuación: 24

$$F = \Delta t \sum 10^{(t - t_0)/Z}$$

donde t es el intervalo de tiempo para la medición de la temperatura del producto, t y t₀ son las temperaturas del producto y referencia (por ejemplo 121°C para esterilización por vapor).

Otra ecuación para el cálculo de F es la siguiente:

$$F = \int_{t_1}^{t_2} L dt$$

donde L = 10^{(T - T₀)/Z} la cual es la constante de letalidad integrada dentro de los límites de tiempo entre tiempo t₁ y tiempo t₂. La ecuación más familiar que involucra un valor F₀ es específica para un valor Z = 10°C y un valor T₀ = 121°C:

$$F_0 = \Delta t \sum 10^{(T - 121)/10}$$

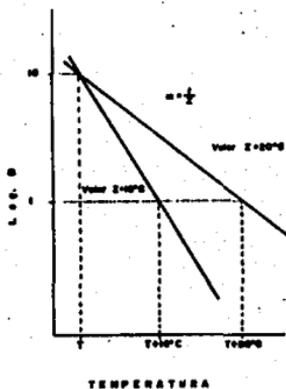


Fig. 3 Gráficas de curvas de enfriamiento

EL VALOR F DE NUESTRA EN LA SIGUIENTE FIGURA:

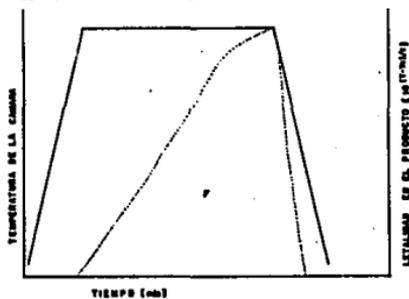


Fig. 4 Gráfica de la temperatura de la cámara y el tiempo.

A continuación se presenta un ejemplo del cálculo manual del valor F_0 .
Tabla No. I ⁸

TABLA No. I

Datos simulados de letalidad para el cálculo del valor F_0 .

Tiempo de esterilización (min)	Temperatura del producto (°C)	Letalidad $10^{(T-121)/10}$
5	100	0.008
6	103	0.016
7	106	0.032
8	109	0.063
9	112	0.126
10	115	0.251
11	118	0.501
12	121	1.000
13	121	1.000
14	121	1.000
15	118	0.501
16	115	0.251
17	112	0.126
18	109	0.063
19	106	0.032
20	103	0.016
21	100	0.008

$F_0 = 5.000$ min.

En la USP XXII no se menciona un valor determinado para el F_0 , sin embargo, se acepta de manera cotidiana que un ciclo debe proporcionar un F_0 de 8 minutos mínimo, pero se acostumbra añadir un tiempo de exceso como factor de seguridad (50 %) y de esta manera se manejan ciclos que proporcionen un $F_0 = 12$ minutos. Esto significa que el punto más frío de la cámara del autoclave recibirá una cantidad de calor equivalente a la que recibiría a 121°C durante 12 minutos. ¹⁶

3.2.4 Relación entre Q_{10} y Z

El valor de Q_{10} y Z indica la pendiente de la línea recta obtenida al hacer la gráfica del logaritmo de la muerte en tiempo contra temperatura.

El término Q es un cociente que indica qué tan rápidamente se produce la muerte a temperatura T_2 respecto a una temperatura menor T_1 . Para propósitos de comparación, es común dar al coeficiente incrementos de 10.0°C (esto es $T_2 - T_1 = 10^{\circ}\text{C}$). Esto se designa como Q_{10} . ¹⁹

El término Z también expresa la resistencia relativa a diferentes temperaturas, y su definición específica que con un incremento de $Z^{\circ}\text{F}$, ó $(0.555 Z)^{\circ}\text{C}$, el tiempo de muerte T_2 es un décimo de T_1 . ¹⁹

La relación entre Q_{10} y Z ha sido estudiada por Rahn. Se puede demostrar a partir de la ecuación

$$k = 2.303/t \log C_0/C$$

donde k_2 es la constante de velocidad de muerte a la temperatura T_2 , y k_1 la constante de velocidad de muerte a T_1 , la cual es menor que T_2 , y t_2 y t_1 los correspondientes tiempos de muerte, que:

$$k_2 = 2.303/t_2 \log C_0/C \quad (5) \text{ y}$$

$$k_1 = 2.303/t_1 \log C_0/C \quad (6)$$

Dividiendo (5) entre (6) obtenemos:

$$k_2/k_1 = t_1/t_2$$

Esta relación es el coeficiente de temperatura para:

$$n^0 = T_2 - T_1 \quad \text{Entonces:}$$

$$Q_n = Q_1^n = t_1/t_2$$

Donde Q_1 = coeficiente para 1⁰C. Por lo tanto:

$$Q_{10} = Q_1^{10}$$

Por definición

$$n = 0.555 Z^{0C}, \text{ y } t_1/t_2 = 10$$

De esta manera

$$Q_1^{10} = Q_1^{0.555 Z} = t_1/t_2 = 10$$

y $0.555 Z \log Q_1 = \log 10 = 1$

ó $\log Q_1 = 1/0.555 Z$

Dado que $Q_{10} = Q_1^{10}$

$$\log Q_{10} = 10 \log Q_1 = 10/0.555 Z = 18/Z \text{ y}$$

$$Z = 18/\log Q_{10} \quad 19$$

3.2.5 Factores que causan desviaciones aparentes del orden logarítmico.

Como se mencionó anteriormente, el orden de muerte microbiana se considera generalmente logarítmico y sujeto a descripción matemática. Sin embargo, se han observado desviaciones de la línea recta cuando se traza un gráfico del logaritmo de los sobrevivientes contra el tiempo de calentamiento a temperatura letal constante. La interrogante surge cuando se observan desviaciones y se debe establecer si tales

desviaciones representan desviaciones del orden logarítmico de muerte o si tales curvas no lineales están describiendo eventos adicionales aparte de la muerte bacteriana. Al realizar determinaciones de resistencia térmica e interpretar los datos obtenidos, es extremadamente importante estar conciente de los varios factores que, se sabe, causan desviaciones de la curva de sobrevivencia de línea recta. La influencia de tales factores se comprende mejor al considerar la activación térmica de la germinación de esporas. Algunas, y quizás todas, las esporas bacterianas requieren activación para una germinación rápida. El calor es un activador de la germinación de esporas muy efectivo. El grado de calentamiento requerido para una activación rápida de cualquier población de esporas depende de varios factores, tales como:

1. Especie o cepa bacteriana.
2. Naturaleza del medio en el cual se producen las esporas.
3. Naturaleza del medio suspensor en el que se almacenan las esporas.
4. Temperatura a la cual se almacenan las esporas.
5. Edad de las esporas.
6. Naturaleza del medio en el cual se subcultivan las esporas.
7. Temperatura de calentamiento.

Pueden haber aún otros factores desconocidos o inesperados. Es suficiente decir que cuando cualquier cantidad significativa de calor se requiere para una rápida germinación, la curva de sobrevivencia observada no es una línea recta.

La curva de la fig. 5 es típica de aquellas que se obtienen cuando una cantidad significativa de calor se requiere; muestra la activación requerida además de la muerte de las esporas. Indica que durante los primeros minutos se están activando más esporas de las que están siendo destruidas y que al final de los cinco minutos de calentamiento se han activado muchas esporas para una rápida germinación. Esto indica que la muerte de las esporas en sí misma es logarítmica.

Una curva similar a la que se muestra en la fig. 5 puede producirse por una combinación de activación y muerte de las esporas. Tal curva se muestra en la fig. 6. Tal curva se produce sí, durante los primeros minutos del calentamiento, algunas esporas se están destruyendo a la misma velocidad que otras están siendo activadas por una germinación rápida. En otras palabras, durante un tiempo no hay ni un incremento ni una disminución en la cuenta microbiana. Entonces, conforme la activación se aproxima a su fin, la velocidad de muerte excede la velocidad de activación, lo que se muestra por la caída de la curva. Una vez que se completa la activación, solo se muestra la muerte, la cual nuevamente es logarítmica.

Diferentes combinaciones de las velocidades de activación y de muerte durante el comienzo del período de calentamiento van a producir diferentes formas en la fase lag de la curva de sobrevivencia. El carácter exacto de esta porción de la curva va a depender del grado de predominancia de una velocidad sobre la otra. Lo importante es recordar que la desviación de una línea recta durante el comienzo del período de calentamiento debido a la activación de esporas no indica, de ninguna manera, un orden de muerte no logarítmico.

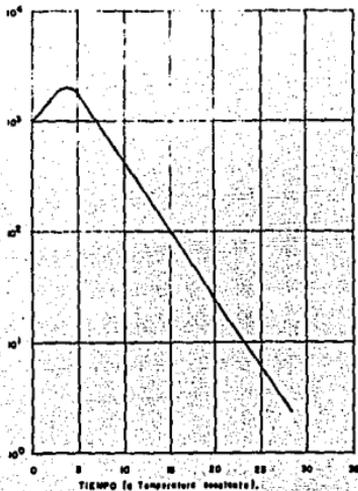


Fig. 5 Influencia del error requerido para la estimación sobre el cociente de la curva de sobreestimación.

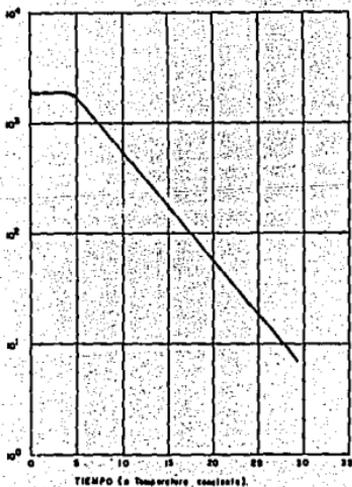


Fig. 6 Cambio de la curva de sobreestimación cuando durante los primeros minutos la velocidad de estimación es igual a la velocidad de muerte.

Se ha observado que, cuando se emplean varias temperaturas para comparar velocidades de muerte, la fase lag causada por la activación por calor desciende conforme la temperatura se eleva. Los períodos lag pueden ser muy aparentes cuando se emplean temperaturas relativamente bajas, con temperaturas mucho más elevadas, puede no detectarse el período lag. Se cree que esto se debe al hecho de que el tiempo de activación de esporas desciende con incrementos en la temperatura. A las temperaturas elevadas la activación puede ocurrir tan rápidamente que el tiempo requerido sea muy corto para ser detectado por las técnicas empleadas.

Cuando un cultivo contiene dos o más especies o cepas de diferente resistencia térmica, la curva de sobrevivencia puede no ser una línea recta. En la fig. 7 se muestra el tipo de curva que puede esperarse si dos especies o cepas crecen en un cultivo. La primera parte de la curva describe la mayor parte de la muerte del microorganismo de menor resistencia, mientras que la segunda parte describe la muerte del microorganismo más resistente. 19

3.3 ENFOQUE DE PROBABILIDAD DE SOBREVIVENCIA

Existen dos enfoques básicos cuando se considera la validación de procesos de esterilización. El primero es el enfoque de probabilidad de sobrevivencia y el segundo es el enfoque de sobremuerte (sobrematanza).

El enfoque de probabilidad de sobrevivencia consiste en establecer los parámetros del ciclo, basándose en el número de microorganismos (biocarga) presentes en el producto y la resistencia térmica de estos microorganismos. La combinación de número y resistencia térmica van a determinar la cantidad de calor requerida para proporcionar una probabilidad de 10^{-6} de sobrevivencia en el producto. Generalmente este enfoque se emplea cuando se están desarrollando y validando ciclos de esterilización para productos o materiales termolábiles. 17,25

La esterilización de materiales termolábiles requiere un proceso térmico que proporcione una adecuada seguridad de esterilidad sin degradar el producto debido a exposición al calor. Tanto el sobrecalentamiento como la falta de calentamiento van a resultar en un producto inaceptable. Por esta razón, el desarrollo y validación de ciclos de esterilización para materiales termolábiles, por necesidad requiere una investigación exhaustiva. 17

El principal objetivo al esterilizar materiales termolábiles es proporcionar la cantidad de calor que resulte en una probabilidad aceptablemente baja de sobrevivencia bacteriana o de "no esterilidad" sin llegar a afectar adversamente al producto. 17

Para establecer que los materiales están siendo consistentemente expuestos a suficiente letalidad por calor se deben realizar los siguientes estudios:

1. Estudios de laboratorio para determinar el número (biocarga) y resistencia de los microorganismos asociados con el producto. Estos estudios van a determinar la letalidad mínima requerida para obtener una probabilidad específica de sobrevivencia bacteriana después del proceso de esterilización (Probabilidad de Sobrevivencia).

2. Calibración de los indicadores biológicos (microorganismos de Desafío) a fin de monitorear la letalidad del proceso.

3. Estudios en planta (en las autoclaves de producción) para determinar:

a) La aceptabilidad del autoclave para proporcionar un medio de calentamiento uniforme (Distribución de calor).

b) La localización del punto más frío dentro del autoclave y dentro del patrón de carga (Penetración de calor).

c) La mínima letalidad proporcionada por el ciclo de esterilización a partir de los estudios de penetración de calor y los desafíos biológicos.

d) La reproducibilidad del ciclo de esterilización para asegurar que el producto va a recibir el tratamiento de calor específico de manera consistente. 17

3.4 ENFOQUE DE SOBREMUERTE

Se puede emplear un enfoque de sobremuerte cuando se esterilizan materiales termoestables, donde el interés principal es asegurar la esterilización sin importar la degradación térmica. Está implícito en el enfoque de sobremuerte que se proporciona suficiente letalidad durante el ciclo de esterilización para proporcionar al menos una probabilidad de 10^{-6} de sobrevivencia microbiana sin considerar el número o la resistencia térmica de los microorganismos. Cuando se emplea el enfoque de sobremuerte, se utilizan generalmente valores F_0 exageradamente altos. Es deseable que el ciclo proporcione un F_0 que resulte en, al menos, una reducción de 12 log de los microorganismos que tengan un valor D de al menos 1 minuto. Un ciclo de esterilización que proporcione una reducción 12 log si el D = 1 minuto va a resultar en una reducción de 24 log si el D = 0.5 minutos y una reducción de 120 log si el valor D = 0.1 minuto. Considerando los microorganismos a partir de los ambientes de producción y del producto, sólo los más resistentes van a tener valores D que están entre 0.5 y 1.0 minutos. Cuando se emplea el enfoque de sobremuerte, hay poca necesidad de realizar estudios de resistencia al calor húmedo o cálculos de probabilidad de sobrevivencia relativos a los microorganismos de biocarga del producto. ¹⁷

La principal diferencia en la validación entre el enfoque de probabilidad de sobrevivencia y el enfoque de sobremuerte es el medio por el cual se obtiene la letalidad mínima requerida por el proceso. Cuando se emplea el enfoque de probabilidad de sobrevivencia, el valor F_0 mínimo requerido se determina basándose en el número y resistencia

de los microorganismos en el producto. Una vez que se ha hecho la determinación, los estudios de validación se realizan para asegurar que el punto más frío dentro de la cámara y la carga recibe ese valor F_0 . Los datos de biocarga y resistencia térmica no se requieren para determinar valores F_0 cuando se emplea el enfoque de sobremuerte. En lugar de ello, los parámetros del ciclo se ajustan para asegurar que el punto más frío en el patrón de carga recibe un valor F_0 que proporcione al menos una reducción de 12 log en los microorganismos que tengan un valor $D = 1$ minuto. ¹⁷

Se debe hacer notar que el enfoque de sobremuerte no implica que sean necesarias menos precauciones para evitar la contaminación microbiana. Los ambientes de manufactura controlados y las buenas prácticas de manufactura que forman barreras a la contaminación bacteriana continúan siendo de la mayor importancia. ¹⁷

A fin de establecer que los materiales están siendo sometidos a suficiente calor en forma consistente cuando se emplea el enfoque de sobremuerte es preciso realizar los siguientes estudios: ¹⁷

1. Calibración de los indicadores biológicos (microorganismos de desafío) a fin de monitorear la letalidad del proceso.

2. Estudios en las autoclaves de producción para determinar:

- a) La aceptabilidad del autoclave para proporcionar un medio de calentamiento uniforme.

b) La localización del punto más frío dentro del patrón de carga.

c) La letalidad mínima proporcionada por el ciclo de esterilización para asegurar que se logra al menos una reducción de 12 log en los microorganismos que tengan un valor $D = 1$ minuto.

d) La reproducibilidad del ciclo de esterilización para asegurar que el material está recibiendo consistentemente el tratamiento de calor especificado. 17

3.5 PARTES DEL AUTOCLAVE.

Las autoclaves se han definido clásicamente como cámaras de presión diseñadas para esterilizar utilizando vapor bajo presión. Las autoclaves para laboratorio y hospital consisten generalmente de una cámara y una sola puerta construida para mantener una temperatura de operación de 121 °C a 135 °C a las correspondientes presiones de 2.1 a 3.2 Kg/cm². Típicamente las autoclaves son diseñadas conforme a las normas ASME (Sociedad Americana de Ingenieros Mecánicos) a fin de que resistan presiones mayores a las que se anticipan que trabajarán. La cámara comúnmente se encuentra encaquetada. Las cámaras pueden ser de una sola puerta o pueden tener una puerta en la parte posterior a fin de poder recibir la carga una vez esterilizada en un área de ambiente controlado microbiológicamente. El vapor puede generarse en un generador especial para el autoclave y que se alimente con agua de la mejor calidad a fin de evitar introducir contaminantes en la cámara durante la esterilización.

En la figura 8 se presenta un autoclave típica encaquetada y de una sola puerta. En su diseño el vapor se introduce a la chaqueta a través de una válvula reguladora de presión. El aire y el condensado se descargan a través de trampas térmicas. Cuando la válvula operativa se coloca en posición para esterilización, permite que el vapor penetre a la cámara desde la chaqueta. El vapor llega inicialmente a un baffle o deflector para separar las gotas de agua y proporcionar una velocidad de flujo lento del vapor de tal manera que el vapor de agua permita el desplazamiento del aire en forma gradual. El condensado y el aire son descargados a través de una línea en la que se encuentra un termómetro

y que desemboca en una trampa térmica. Se incluye una ruptura en la línea de drenaje a fin de garantizar que el condensado o el aire no

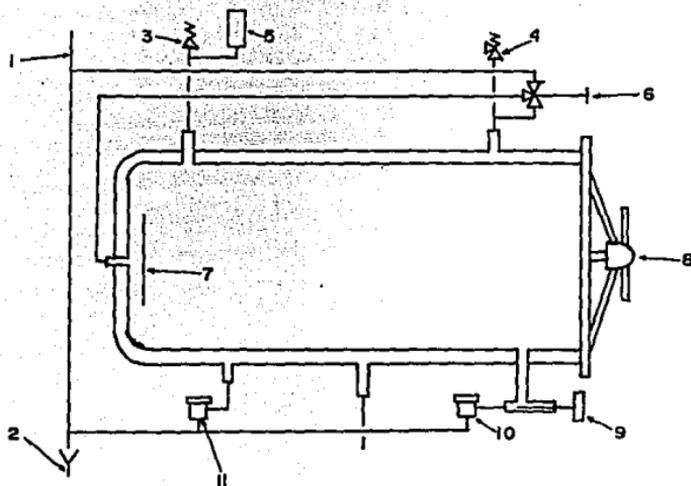


Fig. 8.

- | | |
|------------------------------------|-----------------------------------|
| 1. Ventila atmosferico | 7. Baffle ó deflector |
| 2. Línea de drenaje rota | 8. Puerta |
| 3. Válvula alivio presión camara | 9. Línea drenaje y termómetro |
| 4. Válvula alivio presión chaqueta | 10. Trampa térmica de la cámara |
| 5. Filtro de retención bacterias | 11. Trampa térmica de la chaqueta |
| 6. Valvula de operación | 12. Generador de vapor |

regresen a la cámara, la chaqueta y la cámara cuentan con válvulas de alivio de la presión por razones de seguridad. Tanto la chaqueta como la cámara cuentan con manómetros. La chaqueta y la cámara cuentan con válvulas para romper el vacío y la cámara tiene incluida en su válvula un filtro que retiene bacterias, para retener microorganismos contaminantes. 26

Cuando la válvula de operación se coloca en posición de salida de aire por vacío, el sistema debe incluir una bomba de vacío y un condensador localizado entre la cámara y el drenaje. 7

Todas las autoclaves se basan en el contacto directo entre el vapor de agua y el artículo a esterilizar. El vapor saturado es vapor de agua en equilibrio con agua líquida. En la fig. 9 se muestran los valores de temperatura y presión a los cuales el vapor saturado puro puede existir. El vapor saturado sólo puede existir a lo largo de la línea de vapor saturado, esto quiere decir que su relación entre su temperatura y presión es fija. Un incremento o reducción en la temperatura resulta en un correspondiente incremento o reducción en la presión y viceversa. 7

La utilidad del vapor saturado en los ciclos de esterilización ha sido ampliamente documentada. El efecto esterilizante se logra por la transferencia de calor del vapor a la carga y por el efecto hidratante del condensado resultante. El condensado se forma debido al regreso del vapor al estado líquido de menor energía. Este cambio de fase requiere la transferencia de calor latente del vapor (el cual se le ha proporcionado al pasar el agua del estado líquido a vapor y es de 970 BTU/lb) a los alrededores, calentando así el autoclave y su carga. El

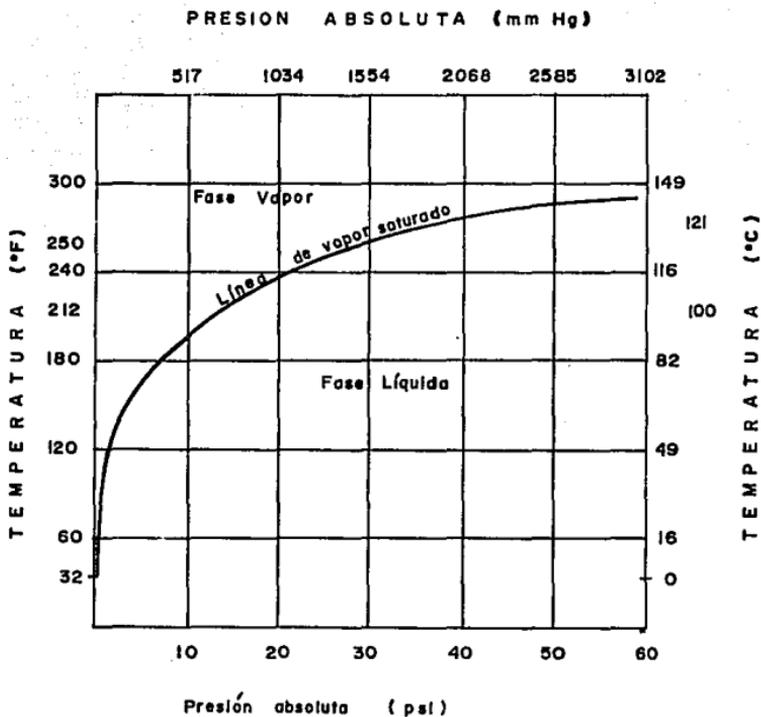


Fig.9. Diagrama de fases agua-vapor; Línea de saturación

calor transferido por la condensación del vapor saturado es muchas veces más grande que aquel que sería transferido del vapor por arriba de su punto de ebullición, llamado vapor sobrecalentado. Este calor es sólo de 1 BTU/lb. Así mismo, el vapor sobrecalentado es conocido como "vapor seco" porque no forma condensado cuando se enfría. El importante efecto hidratante no está presente. 7

La esterilización con vapor sobrecalentado es un fenómeno de calor seco, menos eficiente que un proceso con vapor saturado. Se puede evitar el sobrecalentamiento manteniendo el vapor en equilibrio con agua en un hervidor o generador de vapor. 7

La condensación a agua causa un descenso en el volumen que excede al 99 %. Esto podría resultar en un descenso de presión si el vapor condensado no fuera inmediatamente reemplazado, como lo es en el autoclave. El ciclo de condensación y reemplazo es el que permite al vapor penetrar a todas las superficies y calentarlas hasta que alcanzan una temperatura de esterilización efectiva. Las autoclaves y los ciclos se diseñan para asegurar que el vapor saturado alcance estas superficies. 7

3.6 TIPOS DE CICLOS DE ESTERILIZACION POR VAPOR.

Los procesos de esterilización por vapor de autoclave son:

1. Procesos con desplazamiento del aire de la cámara efectuado por gravedad.
2. Procesos con desplazamiento del aire de la cámara con ayuda de vacío.
3. Procesos con mezcla de vapor-aire a sobrepresión.
4. Procesos con rocío de agua-aire a sobrepresión.
5. Procesos de inmersión en agua. ²⁶

Sin embargo como los tres últimos son de escasa aplicación sólo se tratarán los dos primeros.

3.6.1 Procesos con desplazamiento del aire de la cámara por gravedad.

Este tipo de ciclo se utiliza para productos que toleran las temperaturas de esterilización por vapor a la correspondiente presión del vapor saturado. El producto y la carga deben permitir el efectivo desplazamiento del aire para asegurar el contacto íntimo de todas las superficies con el vapor. Algunos ejemplos de los materiales que pueden esterilizarse efectivamente con éste ciclo son los frascos de vidrio con solución y engargolados, contenedores ventilados con soluciones, instrumentos y materiales empacados secos. Se deben tomar precauciones cuando se esterilizan productos secos con este tipo de autoclave. El aire se atrapa muy fácilmente en paquetes y artículos tales como

matraces y pueden resultar efectos de calor con letalidades de calor húmedo inadecuadas. 26

Se puede aplicar una sobrepresión de aire después de la fase de exposición al vapor para proporcionar un diferencial de presión reducido sobre el recipiente durante la fase de enfriamiento. Se puede usar un rocío de agua para enfriar rápidamente la carga; sin embargo, si se emplea este aditamento, el agua deberá ser de calidad inyectable a fin de evitar la recontaminación de los artículos esterilizados. 26

A continuación se presentó un perfil de temperatura y presión dentro de la cámara durante este ciclo figura 10.

3.6.1.1 Fase de calentamiento.

El vapor es admitido en la cámara y el aire se desplaza de la misma. En un autoclave de desplazamiento de aire por gravedad, el aire se desaloja a través del drenaje de la cámara. Sin embargo, es una práctica común en las grandes autoclaves industriales introducir el vapor a través de un tubo en la parte superior y permitir un período de venteo a fin de asegurarse que el aire se ha desplazado y por el drenaje sale sólo vapor. Los puertos de entrada de vapor y salida de aire se encuentran de tal forma distribuidos que permiten que el vapor penetre a la cámara por la parte alta y empuje al aire hacia abajo (debido a la menor densidad del vapor respecto del aire). Con el desplazamiento por gravedad, la trampa de vapor permite el desplazamiento continuo de aire y de condensado. Se puede utilizar una

válvula secundaria de drenaje a fin de acelerar el tiempo de desplazamiento del aire. 26

Para cámaras con sistema de venteo, el esquema de venteo se desarrolla en forma particular para cada patrón de carga que se vaya a tratar en el autoclave y el cierre de la válvula de venteo se controla bien sea por tiempo transcurrido desde que se libera el vapor, por la temperatura en la línea de venteo o por una combinación de ambos factores. 26

Posteriormente al venteo de la cámara, la temperatura de la cámara se eleva hasta la temperatura del proceso y la presión de la cámara se eleva hasta la presión programada. 26

3.6.1.2 Fase de exposición.

Durante esta fase, la temperatura de la cámara se mantiene a la temperatura del proceso. El medio de control de la temperatura varía significativamente dependiendo del fabricante del autoclave. Las autoclaves de laboratorio comunes utilizan una válvula selenoide en la línea de vapor para controlar la salida de este. Las autoclaves industriales comúnmente emplean una válvula de control proporcional. Algunos sistemas utilizan dos válvulas de balón de diferentes tamaños. La válvula de mayor tamaño se emplea para lograr un adecuado flujo de vapor durante la demanda pico de la fase de calentamiento, y la válvula menor se utiliza para controlar la temperatura durante la fase de exposición. 26

La duración de la fase de exposición se determina experimentalmente para cada patrón de carga. Este es el principal factor para definir el valor F_0 a ser proporcionado al producto. 26

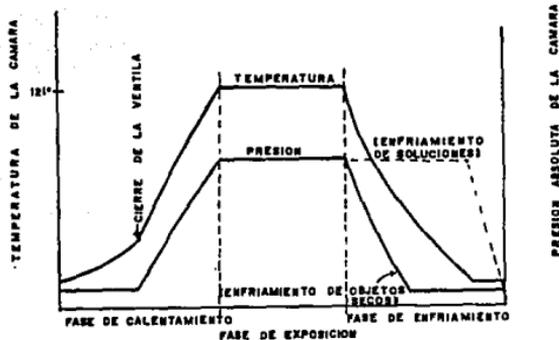


Fig. 10. Diagrama de ciclo con desplazamiento del aire por gravedad

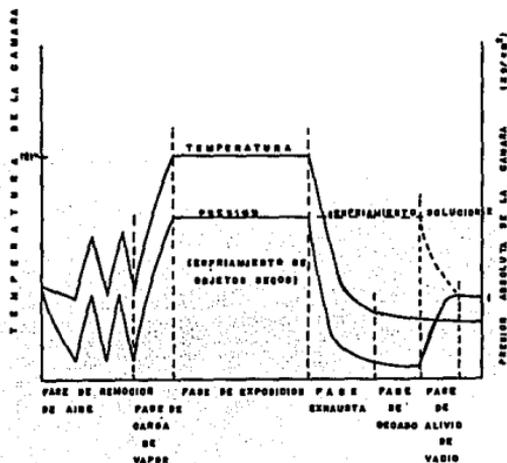


Fig. 11. Diagrama del ciclo con desplazamiento del aire por vacío

3.6.1.3 Fase de enfriamiento.

Esta fase depende de la naturaleza del material que se esteriliza en autoclave. Para artículos secos sometidos a este ciclo, se emplea normalmente una salida rápida del vapor. Después de completarse la exposición, la válvula del drenaje o válvula de venteo se abre para permitir que la presión se iguale con la atmosférica. El condensado se evapora y el calor residual del material facilita que se seque. ²⁶

Si la carga consiste de líquidos en contenedores ventilados, la presión de la cámara debe reducirse lentamente para evitar la ebullición. Típicamente, la válvula de vapor se cierra y las válvulas de venteo o drenaje permanecen cerradas. El producto se enfría principalmente por radiación. ²⁶

Las cargas que consisten de contenedores de soluciones que ya se cerraron deben someterse a una reducción lenta de la presión de la cámara debido a la alta presión interna de los contenedores (frascos o ampollitas). Las ampollitas y los viales pueden enfriarse por radiación con una salida de vapor muy lenta. Sin embargo, es común emplear el enfriamiento con un rocío de agua. Cargas grandes y soluciones en frascos de más de 50 ml generalmente requieren enfriamiento por rocío. Las características de estabilidad térmica del producto a menudo dictan la rapidez con que se debe enfriar. ²⁶

Para el enfriamiento con agua la cámara debe presurizarse con aire antes de comenzar a atomizarla, para que al condensarse rápidamente el vapor no haya formación de vacío. Debe determinarse experimentalmente

la presión requerida por la cámara para mantener la integridad de los contenedores. Comúnmente se utilizan presiones de cámara mayores de las correspondientes presiones de vapor saturado. Después de completar la fase de exposición, se admite aire comprimido a través de una válvula de control. El aire debe filtrarse usando un filtro que retenga bacterias. Después de un breve intervalo para permitir que la presión del sistema se estabilice, se inicia el rociado del agua. La sobrepresión se mantiene hasta que la carga se ha enfriado lo suficiente para permitir la terminación del ciclo y la despresurización de la cámara. 26

3.6.2 Procesos con desplazamiento del aire de la cámara por vacío.

Los procesos de autoclave con desplazamiento de aire con vacío están indicados cuando se van a esterilizar materiales secos debido a la mayor capacidad para remover aire de la carga. Algunos materiales que se pueden esterilizar con este ciclo son los portafiltros de membrana, contenedores vacíos y tuberías o conexiones. Un proceso de este tipo puede usarse para la esterilización de todos los materiales que puedan esterilizarse por vapor. Los materiales deben presentarse y envolverse de tal manera que permitan un flujo libre del vapor a través de la carga en todas sus cavidades y superficies. 26

Este ciclo también se puede usar para soluciones que han sido herméticamente selladas, contenedores rígidos o contenedores de líquidos ventilados. Sin embargo, la magnitud del vacío empleado puede estar limitado por características del producto. Por ejemplo, no podrían esterilizarse por este ciclo empaques termoformados ya que no resisten altos vacíos. El equipo requerido para el ciclo incluye la bomba de vacío y sus correspondientes elementos de control. 26

En la figura 11 se muestra el perfil de presión-temperatura.

3.6.2.1 Fase de remoción del aire.

Los detalles precisos varían con el equipo y el tipo de carga a procesar, pero pueden clasificarse como vacío simple y vacío en pulsaciones. El aire se extrae de la cámara y de la carga generando un vacío.

Los ciclos con vacío pulsante o de profundidad pueden llegar a una presión de menos de 20 mm Hg de presión absoluta en un pulso simple de vacío. 26

El vapor puede introducirse en forma continua o por pulsos durante la evacuación para diluir el aire residual y proporcionar una remoción más completa del aire. Sin embargo, el vacío pulsante se usa más comúnmente y puede ser más eficiente para el acondicionamiento de cargas de objetos secos. En los ciclos con vacío pulsante, la presión de la cámara se reduce a un nivel preestablecido. La evacuación se interrumpe y se inyecta vapor a una determinada presión de la cámara. El proceso se repite un número establecido de pulsos que debe determinarse experimentalmente para el tipo de carga que se va a procesar. 26

3.6.2.2 Fase de carga de vapor.

El vapor es admitido en la cámara para calentar la carga a la temperatura deseada para el proceso y la presión de la cámara se eleva hasta la presión programada.

3.6.2.3 Fase de exposición.

Durante esta fase la temperatura de la cámara se mantiene a la temperatura establecida para el proceso controlando la entrada del vapor. La duración de esta fase se determina experimentalmente para cada tipo de producto y así proporcionar el valor F_0 deseado.

3.6.2.4 Fase exhausta.

Cuando se procesan cargas de materiales secos, la presión de la carga se alivia normalmente en forma rápida. La velocidad de presurización puede controlarse para distintas cargas, tales como portafiltros o envases grandes a fin de evitar daño a los materiales.

Si se emplea remoción del aire por vacío en cargas con líquidos, la fase del ciclo después de la exposición son similares a la fase de enfriamiento para los procesos con desplazamiento por gravedad ya descrito. 26

3.6.2.5 Fase de secado y enfriado.

Las cagas con artículos secos pueden tratarse a fin de remover el agua de condensación y para lograr el enfriamiento mediante el vacío. El calor latente a presión reducida puede usarse para vaporizar la humedad residual. El enfriamiento se logra debido al calor de vaporización del condensado. A menudo estas cargas con materiales secos deben secarse antes de su uso. El secado también es útil para reducir el potencial de

contaminación después de que los materiales han sido removidos de la cámara.

3.6.2.6 Fase de alivio del vacío.

El vacío de la cámara se alivia admitiendo aire a través de un filtro capaz de retener bacterias y así reducir el potencial de recontaminación. 26

3.7 FUNDAMENTOS DE CALIBRACION

La calibración es el conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento de medición y los valores conocidos correspondientes de una magnitud medida. 27

El resultado de una calibración permite estimar los errores de indicación del instrumento de medición o asignar valores a los trazos sobre escalas arbitrarias.

El resultado de una calibración es algunas veces expresados en forma de un "factor de calibración" o de una serie de factores en forma de una curva de calibración. 28

Por otro lado, después de realizar la calibración se puede hacer un ajuste, que es la operación destinada a llevar un instrumento de medición a un funcionamiento y a una exactitud conveniente para su utilización. 28

La necesidad de la calibración para la validación de procesos se aprecia cuando se considera el valor real de las determinaciones que se llevan a cabo durante la validación. Cuando se mide la presión dentro de la cámara de un autoclave, se debe tener la certeza de que el valor que nos ofrece el manómetro del equipo tiene una exactitud aceptable. Si las lecturas de presión del manómetro, se alejan más allá de lo tolerable, tendremos una falsa apreciación de cómo se está llevando a cabo el proceso de esterilización.

De la misma manera, si medimos las temperaturas en diferentes puntos de la cámara del autoclave-154. La cámara del autoclave y observamos lo pero que en realidad son equivocadas, podríamos pensar que el proceso se está llevando a cabo tal y como se planeó, esto nos llevaría eventualmente a pensar que el proceso se encuentra bajo control y, por ello, validado. Sin embargo, las consecuencias de errores en la determinación de la temperatura en procesos de esterilización por vapor, puede significar la diferencia entre la esterilidad y no esterilidad. Esto resulta inaceptable en términos de validación y cualquier producto que se fabrique con tales errores significa un riesgo potencial enorme para el paciente.

Considerando lo anterior, podemos entender que todo plan de validación deba comenzar con una calibración de los instrumentos de medición a fin de tener un grado de seguridad aceptable en las lecturas que se obtengan y que servirán para calificar el proceso.

Como hemos establecido, la calibración es la comparación de los valores que se obtienen con instrumentos de medición contra los valores que se obtienen con un instrumento de referencia o patrón.

Un patrón puede definirse como una medida materializada, aparato de medición o sistema de medición destinado a definir, realizar, conservar o reproducir una unidad, o uno o varios valores conocidos de una magnitud, para transmitirlos por comparación a otros instrumentos de medición. 28

Cuando se realiza la calibración de, por ejemplo, un termómetro de mercurio, debemos tener un patrón de una exactitud mayor a fin de que se puedan comparar los valores obtenidos. Sin embargo, este patrón o termómetro debe estar a su vez calibrado, por ejemplo contra un termopar o una celda de un baño termostático, el cual a su vez ha sido calibrado contra otro instrumento de la mayor exactitud posible. A esta serie de instrumentos y calibraciones se le llama cadena de trazabilidad. La trazabilidad se define como la propiedad de un resultado de medición de poder relacionarlos con los patrones apropiados, generalmente nacionales o internacionales, por medio de una cadena ininterrumpida de comparaciones. Lo anterior se ejemplifica en la figura 12. 27,28

Fig. 12 EJEMPLO DE CADENA DE TRAZABILIDAD

Manómetro de un autoclave.

Manómetro patrón en la planta farmacéutica.

Manómetro patrón en la Dirección General de Normas. Metrología.

Balanza de pesos muertos. Dirección General de Normas. Metrología.

Marco de pesas patrón. Dirección General de Normas. Metrología.

Kilogramo patrón. Dirección General de Normas. Metrología.

Kilogramo patrón. París.

Del ejemplo anterior es posible observar la participación de la Secretaría de Comercio y Fomento Industrial a través de la Dirección General de Normas en su Laboratorio de Metrología que es un laboratorio autorizado y reconocido a nivel internacional para prestar este tipo de servicios de calibración. Existen otros laboratorios reconocidos en México a fin de prestar servicios de calibración en diferentes ramas, como por ejemplo: presión, masas, temperatura, dureza, corriente eléctrica, radiación electromagnética, etc.

Cuando una empresa farmacéutica va a validar un proceso debe iniciar con la calibración de sus instrumentos de medición y a su vez, llevar sus patrones de trabajo a calibrar al laboratorio autorizado y obtener el certificado de calibración correspondiente, con lo cual respaldará la validez de las mediciones realizadas con sus instrumentos de medición.

Cualquier trabajo de validación que se realice sin tener la confianza en la exactitud de las mediciones realizadas, no puede tener ninguna validez ni significado práctico.

4. VALIDACION DE UN CICLO DE ESTERILIZACION POR VAPOR

4.1 Calibración de instrumentos de medición.

A continuación se presenta en forma resumida la manera de calibrar los instrumentos de medición que se emplean en la validación de un ciclo de esterilización por vapor. No se pretende que esta presentación sea exhaustiva, sino más bien una indicación general ya que cualquier industria que inicie su programa de calibración deberá documentarse ampliamente y ajustar sus posibilidades e instrumentos a la normatividad existente.

4.1.1 Manómetro tipo Bourdon.

Un manómetro tipo Bourdon es un instrumento de medición de presiones tal como el que se presenta en la figura 13.

En este tipo de manómetro el elemento principal es el tubo de Bourdon, que por lo general es un tubo de sección transversal elíptica en el interior del tubo se produce una deformación elástica. El extremo cerrado está unido a un eslabón que amplifica la deformación convirtiendo el desplazamiento en un movimiento angular de la aguja.

Existen dos patrones apropiados para realizar la calibración de un manómetro tipo Bourdon: otro manómetro Bourdon de mayor exactitud y una balanza de pesos muertos.

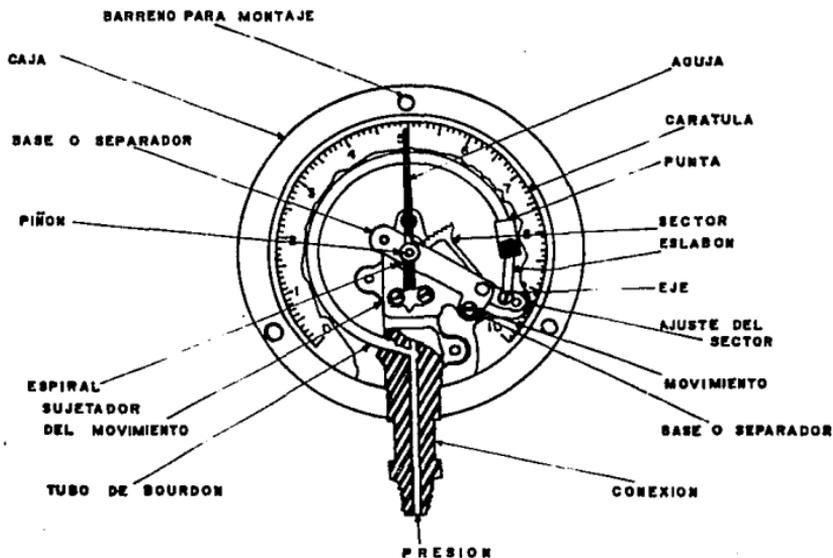


Fig. 13. DIAGRAMA DE UN MANOMETRO

El procedimiento de calibración sugerido es el siguiente: 29

1. Los patrones de trabajo y los instrumentos de trabajo deben calibrarse antes y después de un periodo de uso.
2. Para la calibración de manómetros de 0.1 % de exactitud se seleccionarán 10 puntos, distribuidos sobre la escala graduada. Para manómetros de 0.2 a 5.0% se seleccionan cinco puntos de calibración.
3. La aplicación de la presión se debe hacer en forma lenta y continua para eliminar el efecto de la inercia.
4. Los puntos de calibración se deben medir en forma ascendente y descendente para completar un ciclo. Se deben medir dos ciclos completos, golpeando ligeramente el manómetro antes de tomar cada lectura para eliminar la fricción.
5. La indicación de cero (0) se verifica a la presión atmosférica. La desviación de la aguja no debe ser mayor al error máximo permitido de acuerdo a su clase de exactitud.
6. Se tomarán las lecturas observando la aguja de frente al nivel de graduación de la lectura correspondiente para evitar el error de paralaje.

7. Cuando se utiliza un manómetro Bourdon como patrón, se aplica presión con la fuente de presión hasta llegar a cada uno de los puntos de calibración seleccionados. Para tomar estos mismos puntos en forma descendente, se disminuye la presión por medio de la válvula de alivio.

8. Cuando se calibra con balanza de pesos muertos, se seleccionan las masas de acuerdo al punto de calibración. Se colocan las masas correspondientes al punto de calibración una por una sobre el portapesas, teniendo cuidado de no rayarlas o golpearlas.

9. Si accidentalmente se excede la presión seleccionada, se debe regresar al punto anterior y nuevamente incrementar o disminuir la presión para tomar correctamente la lectura.

10. Si la temperatura es diferente a la temperatura de referencia, las lecturas se corrigen 0.1% por cada 3°C de variación. La corrección será negativa cuando la temperatura sea mayor que la de referencia y positiva cuando sea menor.

11. El error absoluto se determina de los datos obtenidos en los dos ciclos de presión y es igual al máximo error en los puntos de prueba en cualquier dirección. El error se expresa como porcentaje del intervalo de medición.

12. El error de histéresis se determina de la máxima diferencia entre los datos obtenidos en forma ascendente y descendente en un punto de calibración en un mismo ciclo. El error de histéresis se expresa como porcentaje del intervalo de medición.

13. El error de repetibilidad es obtenido de los dos ciclos de presión y es la máxima diferencia entre dos lecturas en un mismo sentido.

14. El máximo error permitido en la exactitud de un manómetro es el 1.0 % de su alcance de medición.

15. La clase de un manómetro se define como el cociente resultante de la división mínima del instrumento entre su alcance de medición x 100.²⁹

A continuación se presenta (en la Tabla II) un ejemplo de calibración de un manómetro clase 1.0; división mínima 0.1 Kg/cm², alcance 7.0 kg/cm²:

Tabla No. II

Hoja de calibración de manómetro tipo Bourdon

Lectura patrón. (kg/cm ²)	Lectura ascenso. (kg/cm ²)	Lectura descenso. (kg/cm ²)	Desviación. (kg/cm ²).
0.0	0.0	0.0	0.0
1.0	1.05	1.0	+0.05
2.0	2.0	1.95	-0.05
3.0	2.95	3.0	-0.05
4.0	3.95	4.0	-0.05
5.0	5.05	5.0	+0.05
6.0	6.0	6.0	0.0
7.0	7.0	7.0	0.0

El manómetro se considera aprobado. 30

4.1.2 Termómetro del autoclave.

Un autoclave tiene como elemento sensor de la temperatura un termopar tipo T de cobre-constantano, el cual tiene un rango útil de $-300\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $500\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Para la calibración de un termopar, lo mismo que para calibrar diversos tipos de termómetros usados en la industria farmacéutica (tales como el termómetro líquido en vidrio o el termómetro bimetalico) se ocupan al menos tres aparatos y un instrumento de medición. Los aparatos necesarios son: un monitor de RTD, un Ice Point y un HTR-300, mientras que el instrumento de medición que sirve como patrón es un RTD de platino de 50 ohms de resistencia.

El RTD es un termómetro especial que no recoge lecturas en forma directa, sino que funciona como un termopar, por lo que sus lecturas se obtienen en ohms de resistencia eléctrica. No obstante, la lectura directa de un RTD no tiene la suficiente fuerza para leerse directamente, por lo que se requiere un monitor de RTD, el cual amplifica la lectura y la muestra en una pantalla en términos de ohms. Debemos decir en este momento que cuando se calibra un RTD se generan una serie de valores que se agrupan en tablas, los que relacionan el valor en ohms que se obtiene con un RTD con el valor en temperatura correspondiente. Un RTD tiene una sensibilidad de 0.01 ohms y el alcance de medición es muy amplio, por lo que las tablas resultantes son muy extensas, pero de gran utilidad para asegurarse de que se tomarán lecturas de una exactitud de $0.01\text{ }^{\circ}\text{C}$. 11

Otro de los aparatos necesarios para la calibración es el Ice Point que es un baño termostático que mantiene constante la temperatura en 0.00 °C. Contando con un RTD y un monitor de RTD se conecta el RTD al monitor y posteriormente se introduce en uno de los 4 pozos que tiene el Ice Point y se permite que se equilibre la temperatura, posteriormente se toma la lectura en el monitor, se busca el valor en las tablas del RTD y se obtiene la temperatura en °C.

Cuando se quieren emplear temperaturas diferentes de 0.0 °C, como en el caso de la calibración de termopares de un autoclave, se emplean equipos conocidos como HTR que pueden mantener temperaturas constantes en cualquier punto de la escala desde 50 a 300 °C con división mínima de 0.01 °C. Una vez que se alcanza la temperatura deseada, la cual se verifica con un RTD, se mantiene constante durante horas si es preciso.

En la figura 14 se muestran los equipos mencionados. 11

A fin de asegurar una exactitud absoluta en cada medición de la temperatura, cada termopar debe calibrarse a dos o más temperaturas conocidas.

En las mediciones de temperatura en autoclave de vapor, el punto de congelación es la temperatura de calibración mínima recomendada y la temperatura normal del proceso es la temperatura máxima recomendada de calibración. Se realizan lecturas a 0.0 °C y a 121 °C y se obtiene una regresión lineal entre esas temperaturas, el máximo error respecto al RTD debe ser menor de +/- 0.1 °C en todo el intervalo de 0.0 a 121 °C.

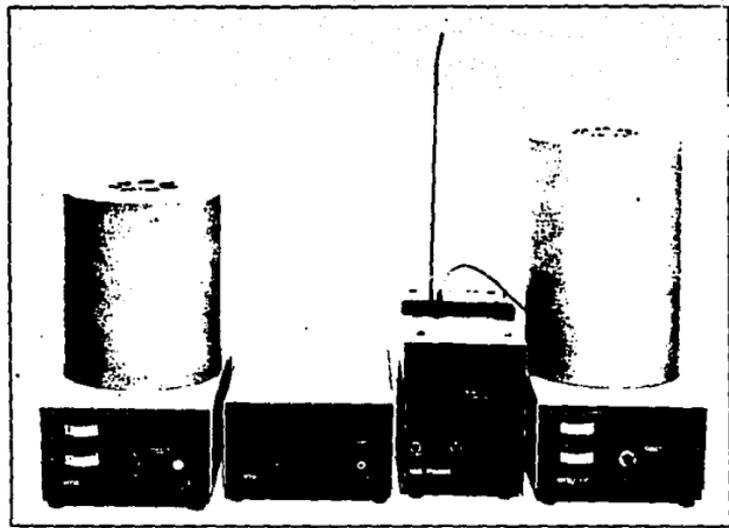


figura 14. Equipo para validación (HTR, monitor de RTD, Ice point y RTD).

El procedimiento recomendado para la calibración de termopares que puedan conectarse a un procesador multipunto es:

1. Conecte los termopares a los canales del sistema de medición.
2. Encienda el sistema de medición y el monitor de RTD al menos 2 horas antes de la calibración, lo mismo que el Ice Point y el HTR.
3. Coloque el RTD en el pozo del Ice Point y permita que se equilibre.
4. Una vez alcanzado el equilibrio del RTD introduzca el termopar en otro de los pozos del Ice Point.
5. Alcanzado el equilibrio, tome la lectura del RTD y del termopar y anótela en la hoja de calibración.
6. Coloque tanto el RTD como el termopar en el HTR que ha alcanzado la temperatura deseada y permita que se alcance el equilibrio, realizando la lectura de ambos para cada temperatura de calibración y asentándolas en la hoja de calibración. 31

4.2 Calificación de instalación del autoclave

Se debe establecer un programa de calificación del autoclave para demostrar que el equipo es capaz de operar rutinariamente dentro de los límites especificados.

Se deben considerar los siguientes aspectos:

1. Especificaciones del equipo tales como: tamaño, material de construcción, puertas, empaques, manómetros, cronómetro, termómetro, etc.
2. Especificaciones para los sistemas auxiliares, como: generador de vapor, sistema de filtración de agua, niveles de agua, válvulas, distribución de vapor (ingreso y distribución del vapor etc.)
3. Especificaciones referentes a la fuente de poder, el aire comprimido, agua de enfriamiento, etc.
4. Calificación operativa para probar un modo de operación regular, tal como: distribución de calor en cámara vacía, presión dentro de la cámara y la chaqueta, etc.
5. Procedimiento de calibración, programa de mantenimiento y manuales de uso. 25

Dependiendo del tipo de equipo y de su historia de uso se repetirá periódicamente la calificación.

Como se ha mencionado anteriormente, la calificación de instalación del equipo permite verificar que el equipo se encuentra instalado conforme fue diseñado por el fabricante y que no se han realizado modificaciones u omisiones que pongan en riesgo la efectividad del proceso.

Después de que el equipo ha sido diseñado o seleccionado, debe ser evaluado y probado para verificar que es capaz de operar satisfactoriamente dentro de los límites operativos requeridos por el proceso. Esta fase de la validación incluye el examen del equipo; la determinación de los requisitos de calibración, mantenimiento y ajuste; y la determinación de las características críticas del producto que pueden afectar el proceso y el producto. La información que se obtiene en estos estudios debe usarse para establecer procedimientos escritos para la calibración, el mantenimiento, monitoreo y control.

Es importante que en la calificación del equipo se simulen las condiciones de operación a las que será sometido de manera rutinaria. Las pruebas y desafíos deben repetirse un número suficiente de veces para asegurar la confianza y significación de los resultados. Todos los criterios de aceptación deben cumplirse durante las pruebas y en caso de que alguno de los criterios no se cumpla, deberá realizarse una investigación a fin de encontrar la causa y corregirla.

Para el caso particular del autoclave, es preciso que se tomen en cuenta los siguientes aspectos para la calificación de instalación:

Identificación de la calificación.

Razón de la calificación: inicial/modificación.
Fecha
Fecha de calificación previa.

Datos generales

Marca
Tipo
Año de construcción
Fabricante
Fecha de instalación
Medio esterilizante: vapor/agua
Usos: materiales/productos

Datos principales

Medidas
Volumen
Capacidad de carga
Disposición de la cámara: vertical/horizontal
Puertas: sencilla/doble
Método de deaeración: gravedad/vacío
Método de carga: carros/canastillas/unidades

Vapor como medio esterilizante

Fuente de vapor:	caldera/generador individual
Fuente del agua:	demineralizada/destilada/RO
Presión del vapor	
Compensación de presión de aire:	si/no
Baffle o deflector:	si/no
Filtro:	si/no
Salida del condensado:	x cm de la carga/ x cm drenaje

Aire como agente enfriador

Localización de la entrada del aire	
Placa de distribución:	si/no
Tipo de filtro y marca	

Vacio

Tipo y marca de la bomba	
Capacidad de vacío máxima	

Programación

Programas permanentes: si/no
Es posible programar F_0 : si/no
Tiempo de esterilización ajustable: si/no
Temperatura de esterilización ajust: si/no
Tiempo de vacío ajustable: si/no

Graficador

Tipo y marca
Fecha de calibración
Medidas de la gráfica

Registro de temperatura

Intervalo de medición
División mínima
Fundamento de medición

Registro de presión

Tipo y marca
Intervalo de medición. 32

4.3 Calificación de operación del autoclave.

El propósito de la calificación de operación es proporcionar pruebas rigurosas que demuestren la efectividad y reproducibilidad del proceso. Cuando se inicia la fase de calificación de operación se entiende que se han establecido las especificaciones del proceso, se ha probado que son esencialmente aceptables por medio de los convenientes estudios de laboratorio y que se ha juzgado al equipo aceptable sobre la base de los estudios de calificación de instalación.

Cada proceso debe estar definido y descrito con suficiente especificidad de tal manera que los empleados comprendan lo que se requiere.

Al desafiar un proceso, con fines de asegurar su capacidad es importante que las condiciones de desafío simulen aquellas que se encontrarán como las más desfavorables. Los desafíos deben repetirse un número suficiente de veces para asegurarse de que los resultados son significativos y consistentes.

En el caso del autoclave se establecen como parámetros críticos la presión, la temperatura y el tiempo de trabajo de cada ciclo. Por ello, las pruebas realizadas durante la calificación de operación buscan establecer la capacidad de los controles de estas variables, para mantener los parámetros en los intervalos o valores previamente establecidos en forma consistente y reproducible. 14

Los controles se muestran en la figura 16.

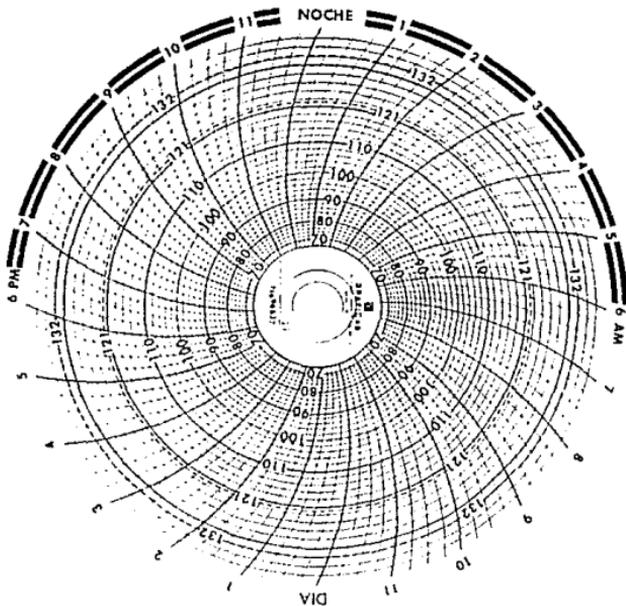


Figura No. 15 Gráfica de ciclo de esterilización.

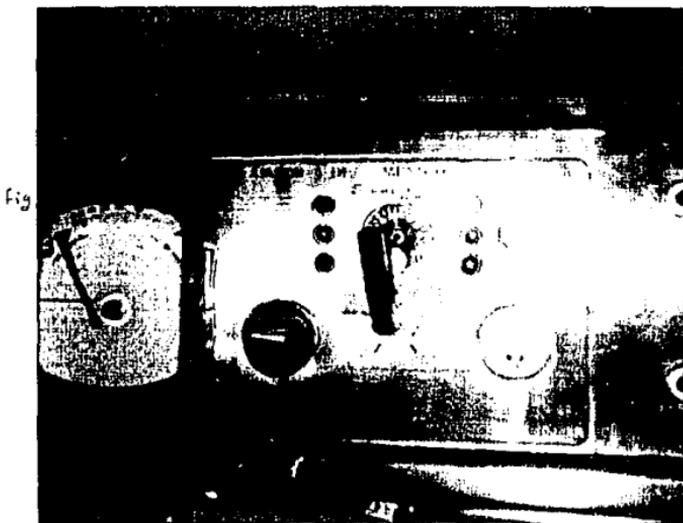


Figura No. 16 Tablero de control de autoclave.

A continuación se muestran las tablas III, IV y V con datos teóricos de calificación de operación.

TABLA No. III

Calificación de operación

Ciclo No. 1

Programa:

Temperatura inicial : menor a 70 °C
 Temperatura trabajo : 121.1 °C
 Presión trabajo cámara : 1.55 kg/cm²
 Presión trabajo chaqueta : 1.60 kg/cm²
 Presión trabajo generador: 1.65 kg/cm²
 Tiempo de calentamiento : 15 min.
 Tiempo de exposición : 30 min.
 Tiempo de enfriamiento : 15 min.

HORA	TIEMPO (min)	TEMP. (°C)	P. GENER. Kg/cm ²	P. CHAQ. Kg/cm ²	P. CAM. Kg/cm ²
10:00	0	59	1.15	1.10	1.05
10:03	3	75	1.20	1.15	1.10
10:06	6	91	1.30	1.25	1.20
10:09	9	110	1.40	1.35	1.30
10:12	12	119	1.55	1.50	1.45
10:15	15	121	1.65	1.60	1.55
10:18	18	121	1.65	1.60	1.55
10:21	21	122	1.75	1.70	1.65
10:24	24	121	1.75	1.70	1.65
10:27	27	122	1.65	1.60	1.55
10:30	30	122	1.75	1.70	1.65
10:33	33	121	1.75	1.70	1.65
10:36	36	121	1.65	1.60	1.55
10:39	39	122	1.75	1.70	1.65
10:42	42	122	1.75	1.70	1.65
10:45	45	122	1.75	1.70	1.65
10:48	48	111	1.20	1.15	1.10
10:51	51	107	1.10	1.05	1.00
10:54	54	97	1.10	1.05	1.00
10:57	57	87	1.10	1.05	1.00
11:00	60	73	1.10	1.05	1.00

TABLA No. IV

Calificación de operación

Ciclo No. 2

Programa:

Temperatura inicial : menor a 70 °C
 Temperatura de trabajo : 121.1 °C
 Presión trabajo cámara : 1.55 Kg/cm²
 Presión trabajo chaqueta : 1.60 kg/cm²
 Presión trabajo generador : 1.65 kg/cm²
 Tiempo de calentamiento : 15 min.
 Tiempo de exposición : 30 min.
 Tiempo de enfriamiento : 15 min.

HORA	TIEMPO (min)	TEMP: (°C)	P. GENER. Kg/cm ²	P. CHAQ. Kg/cm ²	P. CAM, Kg/cm ²
7:20	0	60	1.15	1.10	1.05
7:23	3	76	1.20	1.15	1.10
7:26	6	90	1.30	1.25	1.20
7:29	9	112	1.40	1.35	1.30
7:32	12	120	1.55	1.50	1.45
7:35	15	121	1.65	1.60	1.55
7:38	18	121	1.65	1.60	1.55
7:41	21	122	1.75	1.70	1.65
7:44	24	122	1.75	1.70	1.65
7:47	27	121	1.65	1.60	1.55
7:50	30	122	1.75	1.70	1.65
7:53	33	122	1.75	1.70	1.65
7:56	36	121	1.65	1.60	1.55
7:59	39	122	1.75	1.70	1.65
8:02	42	122	1.75	1.70	1.65
8:05	45	122	1.75	1.70	1.65
8:08	48	110	1.20	1.15	1.10
8:11	51	106	1.10	1.05	1.00
8:14	54	98	1.10	1.05	1.00
8:17	57	86	1.10	1.05	1.00
8:20	60	72	1.10	1.05	1.00

TABLA No. V

Calificación de operación.

Ciclo No. 3

Programa:

Temperatura inicial : menor a 70 °C
 Temperatura de trabajo : 121.1 °C
 Presión trabajo cámara : 1.55 kg/cm²
 Presión trabajo chaqueta : 1.60 kg/cm²
 Presión trabajo generador : 1.65 kg/cm²
 Tiempo de calentamiento : 15 min.
 Tiempo de exposición : 30 min.
 Tiempo de enfriamiento : 15 min.

HORA	TIEMPO (min)	TEMP. (°C)	P. GENER. Kg/cm ²	P. CHAQ. Kg/cm ²	P. CAM. Kg/cm ²
13:00	0	65	1.15	1.10	1.05
13:03	3	70	1.20	1.15	1.10
13:06	6	92	1.30	1.25	1.20
13:09	9	111	1.40	1.35	1.30
13:12	12	121	1.55	1.50	1.45
13:15	15	121	1.65	1.60	1.55
13:18	18	122	1.65	1.60	1.55
13:21	21	121	1.75	1.70	1.65
13:24	24	122	1.75	1.70	1.65
13:27	27	121	1.65	1.60	1.55
13:30	30	122	1.75	1.70	1.65
13:33	33	121	1.75	1.70	1.65
13:36	36	122	1.65	1.60	1.55
13:39	39	121	1.75	1.70	1.65
13:42	42	121	1.75	1.70	1.65
13:45	45	121	1.75	1.70	1.65
13:48	48	110	1.20	1.15	1.10
13:51	51	105	1.10	1.05	1.00
13:54	54	99	1.10	1.05	1.00
13:57	57	85	1.10	1.05	1.00
14:00	60	71	1.10	1.05	1.00

Para el tratamiento estadístico de los resultados obtenidos del estudio de calificación de operación se realiza un análisis de variancia de bloque completo al azar. Lo mismo se hará para los resultados de los estudios de distribución de calor cámara sin carga, estudios de distribución de calor cámara con carga y estudios de penetración de calor. Este análisis de variancia ayudará a establecer si existen diferencias estadísticamente significativas en los valores obtenidos dentro de una corrida o entre corridas que constituyen un ciclo.

Este diseño se usa cuando las unidades experimentales pueden agruparse; generalmente el número de unidades por grupo es igual al número de tratamientos. Tal tipo de grupo se llama bloque o repetición. El objetivo del agrupamiento es lograr que las unidades de un bloque sean tan uniformes como sea posible, de modo que las diferencias observadas se deban en gran parte a los tratamientos.

Cada observación se clasifica de acuerdo con el bloque que contiene la unidad experimental y el tratamiento aplicado, dando lugar a una clasificación de dos vías. Cada tratamiento aparece un número igual de veces, usualmente una vez, en cada bloque y cada bloque contiene todos los tratamientos.

La forma de agrupar los datos es:

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Bloque	$r - 1$			
Tratamiento	$t - 1$			
error	$(r - 1)(t - 1)$			
Total	$rt - 1$			

Donde gl son los grados de libertad, SC suma de cuadrados, CM cuadrados medios y el valor F calculado.

Paso 1 Disponer los datos en una tabla. Obtener los totales de tratamientos $Y_{i.}$, totales de bloques $Y_{.j}$, y el gran total $Y_{..}$. Simultáneamente, obténgase y^2 cada tratamiento y bloque, es decir,

$$y^2_{ij} \quad i = 1, \dots, t \quad t : \text{tratamientos}$$

$$y^2_{ij} \quad j = 1, \dots, r \quad r : \text{bloques}$$

Obténgase el gran total sumando los totales de tratamientos y los totales de bloque, separadamente. Al mismo tiempo, obténgase las sumas de cuadrados de esos totales.

Paso 2 Obténgase las sumas de cuadrados (ajustadas) de la forma siguiente

$$\text{Factor de corrección} = C = Y^2../rt$$

$$\text{SC total} = \sum_{ij} Y^2_{ij} - C$$

$$\text{SC bloques} = \sum_j Y^2_{.j}/t - C$$

$$\text{SC tratamientos} = \sum_i Y^2_{i.}/r - C$$

$$\text{SC error} = \text{SC total} - \text{SC tratamientos} - \text{SC bloques}$$

$$\text{CM} = \text{SC}/\text{gl}$$

$$F \text{ calculada} = \text{CM tratamiento}/\text{CM error.} \quad (34)$$

En la tabla No. 10 se muestra el análisis de varianza de los datos de calificación de operación

4.4 El equipo usado para la validación.

4.4.1 El procesador Multipunto.

El Digistrip III es un monitor de procesos multipunto apropiado para operar en un banco, montado en un anaquel o para su instalación en un panel de instrumentos (figura 17).

El Digistrip III es un instrumento computarizado. Su operación se basa en un microprocesador integrado el cual debe ser programado (instruido)

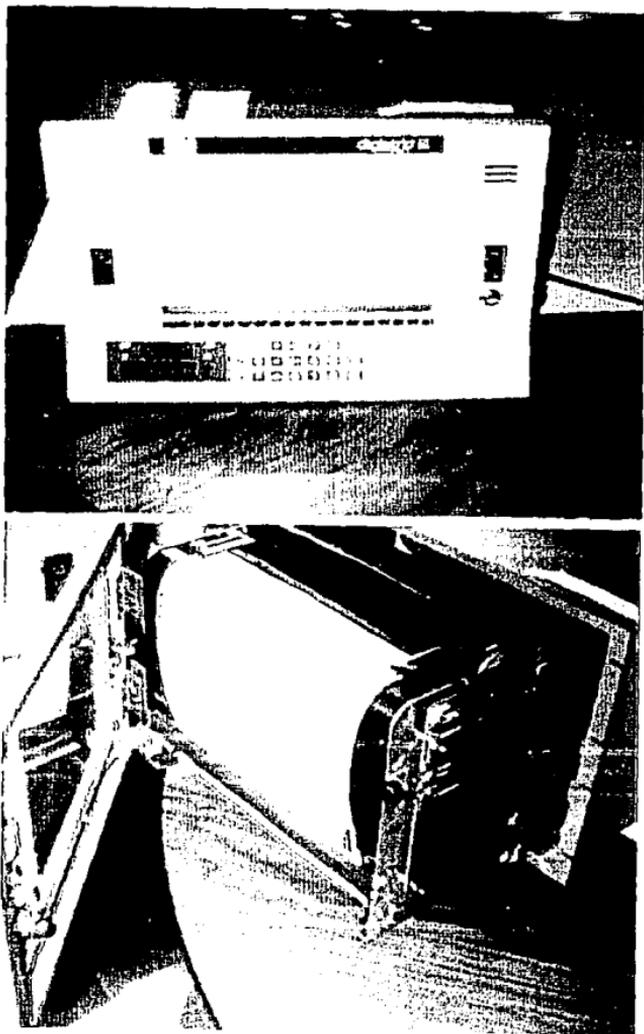


Figura No.17 Digistrip III

por el usuario con una guía con lo cual se da una aplicación específica. La unidad se programa y opera usando el teclado de la parte frontal (figura 18). Tanto las funciones de operación (Run) o de programación (Program) se realizan haciendo una secuencia lógica de las

entradas en el teclado. Cuando se hace una entrada en el teclado la información entrada aparece en la pantalla del tablero. Si se introducen adecuadamente las entradas se produce un sonido de "beep" corto, mientras que si se introduce una entrada equivocada se produce un "beep" largo y se rechaza la entrada. 12

El instrumento también incluye una impresora de 8 1/2 x 11 pulgadas la cual proporciona un registro permanente de los datos del proceso.

La unidad puede manejar hasta 48 entradas divididas en bancos de 16 entradas cada uno. Cada entrada es asignada a un canal que se muestra en la pantalla del teclado.

Para usar el Digistrip III en estudios de validación del autoclave se deben realizar varias operaciones tales como:

1. Encendido.
2. Colocar papel.
3. Introducir los números de configuración
4. Redactar el encabezado del estudio a realizar.
5. Programar el equipo según el estudio a realizar.
6. Calibración interna de los termopares.
7. Realizar el estudio.



Figura No. 18 Tablero del Digistrip III

1. Encendido del Digistrip III. Para encender el equipo es suficiente conectar el equipo a la línea de corriente eléctrica, abrir la tapa y poner el botón de encendido en posición ON.

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

2. colocar el papel. Generalmente se coloca un papel nuevo para asegurarse de que alcance para realizar el estudio. El papel es del tipo usado en impresoras para computadoras, de tal manera que una hoja sigue a la otra, de la misma manera, el papel se coloca por debajo de la impresora del equipo, se pasa la hoja por debajo del cursor de impresión, se sube la hoja hasta que cubre totalmente la pantalla, se asegura con las tenazas de dientes y se pasa a la parte posterior del equipo (donde pueden acumularse todas las hojas del estudio).

3. Introducir los números de configuración. En terminología de computación un número de configuración es aquel definido durante la programación, el cual selecciona una serie de parámetros operativos del sistema básico. El Digistrip III requiere la definición de cuatro números de 6 dígitos cada uno.

Para la validación de ciclos de esterilización por vapor se han elegido los siguientes números de configuración del Digistrip III

Número 1 : 7 0 0 0 0 1

Número 2 : 7 4 0 1 0 0

Número 3 : 0 0 0 1 0 0

Número 4 : 0 0 0 6 0 0

conforme las tablas correspondientes que se proporcionan en la Guía de usuario del equipo.

Una vez seleccionados los números de configuración, deben introducirse al programa, lo cual se logra con la siguiente secuencia de operaciones:

Mode : Program

Config No. : 7 0 0 0 0 1 Enter

Config No. : 7 4 0 1 0 0 Enter

Config No. : 0 0 0 1 0 0 Enter

Config No. : 0 0 0 6 0 0 Enter

4. Redactar el encabezado (Header) del estudio a realizar. A fin de identificar cada estudio que se realice en la validación del autoclave es posible redactar un encabezado y escribir, tal como se hace con una máquina de escribir, toda aquella información (Empresa, tipo de estudio, fecha, equipo evaluado, patrón de carga, parámetros del ciclo, número de corrida, ubicación del máximo, mínimo, promedio y rango de las lecturas, etc.). Lo anterior puede hacerse de la siguiente manera:

Mode : Program

Canal : 901 Enter

Header : Escribir letra por letra y marcar "Enter" cada 8 espacios escritos, lo que constituye un canal. Una vez escrito en un canal cambiar al siguiente para poder seguir escribiendo:

Canal : 902 Enter

Para escribir toda la información necesaria se cuenta con 9 renglones (900, 100, 200, 300, 400, 500, 600, 700, 800) divididos cada uno en 16 canales de 8 letras cada uno.

Con el botón Alfa shift en posición arriba se pueden escribir las letras del teclado; mientras que con el Alfa shift abajo es posible escribir los números y signos del teclado.

Una vez que se ha redactado un encabezado, es posible recorrerlo a fin de confirmarlo antes de imprimirlo por medio de los botones de flechas con lo que se recorre cada canal y con el botón de "change" para cambiar de canal siempre y cuando el botón alfa shift esté abajo.

El encabezado se imprime al inicio del estudio en forma automática.

5. Programar el equipo según el estudio a realizar. Para un estudio de validación de esterilización por vapor será preciso que se programen varias funciones en el equipo, tales como: lectura de termopares tipo T, calibración automática de termopares, cálculo del promedio de las lecturas, impresión del máximo, mínimo, cálculo de la diferencia entre máximo y mínimo, cálculo de la letalidad por minuto, acumulación de letalidades. En orden de aparición se trata de las funciones 09, 35, 66, 67, 68, 83, 95 y 46. A continuación se muestra una Hoja de Programación figura 19.

Las funciones antes mencionadas se programan de la siguiente forma:

Figura 19 Hoja de programación del Digistrip III

Canal	:	101	Enter
Asig función	:	09000	Enter
Canal	:	102	Enter
Asig función	:	09000	Enter
			Repetir hasta el canal 112
Canal	:	113	Enter
Asig función	:	68000	Enter
Canal	:	114	Enter
Asig función	:	67000	Enter
Canal	:	115	Enter
Asig función	:	83000	Enter
Canal	:	116	Enter
Asig función	:	66000	Enter
Canal	:	201	Enter
Asig función	:	95101	Enter
			Repetir hasta el canal 212
Canal	:	213	Enter
Asig función	:	99000	Enter
			Repetir hasta canal 216
Canal	:	301	Enter
Asig función	:	46000	Enter
			Repetir hasta el canal 312
Canal	:	313	Enter
Asig función	:	99000	Enter
			Repetir hasta el canal 316

6. Calibración interna de los termopares. Se realiza una calibración de los termopares a utilizar a fin de asegurar que las lecturas que se obtengan con ellos serán exactas y el procedimiento de calibración interna incluye un paso de ajuste de la temperatura a fin de eliminar las diferencias que se presenten entre los termopares y el RTD patrón.³⁵

Para la calibración de termopares debe contarse con RTD, monitor de RTD, Ice point y HTR. Se realizan las conexiones respectivas y se llevan los baños termostáticos a sus respectivas temperaturas (0.0 °C y 121 °C) para estudios en autoclave.

La calibración se realiza por una linearización de los resultados obtenidos con el termopar y ajustando la diferencia contra el RTD. Hecho esto, las diferencias se guardan en la memoria del equipo y cuando se realicen las lecturas, el valor que se presenta estará ya corregido. El procedimiento para realizar la calibración interna es el siguiente:

```
Mode          : Program
Input 1       : 000.00   Enter
Input 2       : 121.00   Enter
Output 1      : 000.00   Enter
Output 2      : 121.00   Enter
Mode          : Run
Canal         : 101      Enter
Input 1       : 000.30   Enter
```

Change : 000.30 Enter
Canal : 000.00 Confirmado
Canal : 102 Enter
Input 1 : 000.10 Enter
Change : 000.10 Enter
Canal : 000.00 Confirmado

Todos los termopares deben estar en el Ice
point junto con el RTD.

Repetir hasta el canal 116.

Encender gráfica

Time interval : 1 minuto Enter

Header log

Header log

Obtener al menos cinco lecturas espaciadas por un minuto a fin de
confirmar la calibración a 0.0 °C

Introducir todos los termopares al HTR a 121°C y el RTD.

Canal : 101 Enter
Input 2 : 121.30 Enter
Change : 000.30 Enter
Canal : 121 Confirmado

Repetir hasta el canal 116

Encender gráfica

Time interval : 1 minuto Enter

Header log

Header log

Obtener al menos cinco lecturas espaciadas por un minuto a fin de
confirmar la calibración a 121 °C. 12

4.4.2 Los termopares.

Un termopar es un sensor de temperatura simple, barato y versátil construido por la unión de dos cables de composición diferente para formar una "unión de termopar". Cuando un termopar se conecta a un sistema de referencia y medición bien diseñado, la señal de salida es una función única de la temperatura de la unión. Los termopares son los sensores de temperatura más satisfactorios para realizar estudios de distribución y penetración de temperatura durante la validación, mientras que los RTD son los estándares más satisfactorios para la calibración de temperaturas.

El fundamento del funcionamiento de un termopar se encuentra en el hecho descrito por T. J. Seebeck quien descubrió que una corriente fluye en un circuito de dos conductores diferentes siempre que las uniones de los conductores se encuentren a diferentes temperaturas. Lo anterior se basa en dos postulados:

1. El nivel de energía de un electrón en cualquier conductor se incrementa conforme la temperatura del conductor aumenta.
2. La cantidad de cambio de energía para un cambio de temperatura dado depende de la composición y estructura molecular del conductor.

La propiedad material que expresa la cantidad de energía requerida para un incremento en la temperatura dada se denomina "poder termoeléctrico". El poder termoeléctrico está dado en unidades de

microvolts de incremento de energía por cada grado Celsius de incremento de temperatura en el material. 31

Hemos dicho que la cantidad de cambio de energía para un cambio de temperatura dado depende de la composición y estructura del conductor y que deben emplearse dos alambres de materiales diferentes. Existen actualmente varios tipos de termopares que se emplean para diversos rangos de temperatura, para los cuales se han mostrado más apropiados. Las diferencias entre ellos se encuentran principalmente en los materiales de los que se fabrican los alambres, tal como se indica en la tabla VI.

TABLA No. VI

Características de algunos tipos de termopares.

Tipo de termopar.	Composición.	Alcance de medición.
T	Cobre-Constantano	-300 a 500 °C
J	Hierro-Constantano	0 a 1300 °C
E	"Cromel"-Constantano	-300 a 1800 °C
R	Platino-Platino-Radio	0 a 2700 °C

El tipo de termopar que se emplea en los estudios de validación en la industria farmacéutica es el tipo T (cobre-Constantano). Como se presenta en la Figura 20.

El fabricante garantiza las siguientes temperaturas con este tipo de termopares, referidos a 0 °C

50 °C +/- 0.1 °C

121 °C +/- 0.25 °C

300 °C +/- 1.2 °C 31



Figura No. 20 Termopares.

4.5 Estudios de distribución de calor (cámara sin carga)

Los estudios de distribución de calor incluyen dos fases:

- 1) La distribución de calor en una autoclave vacía y
- 2) Distribución de calor en una autoclave cargada. Se deben usar entre 10 y 20 termopares por ciclo. Los termopares deben asegurarse dentro de la cámara de acuerdo a un arreglo definido.

4.5.1 Definición de los parámetros del ciclo.

Ya se han mencionado los tipos de ciclos que se pueden realizar en un autoclave de vapor y para cada tipo de ciclo deben realizarse los estudios de distribución de calor y de penetración de calor, así como los desafíos microbiológicos.

En este caso sólo se mencionará un tipo de ciclo que servirá como ejemplo para otros tipos de ciclos.

Cada ciclo queda definido por los parámetros críticos que se controlan en el equipo: temperatura, presión y tiempo.

El ciclo en estudio se llama "escape rápido" y viene incluido en la programación del autoclave. Queda definido por:

Temperatura inicial	: menor a 70 °C
Temperatura de trabajo	: 121.1 °C
Tiempo de calentamiento	: 15 min.
Tiempo de exposición	: 15 min.
Tiempo de enfriamiento	: 15 min.
Presión trabajo cámara	: 1.55 Kg/cm ²
Presión trabajo chaqueta	: 1.60 Kg/cm ²
Presión trabajo generador	: 1.65 Kg/cm ²

El criterio de aceptación establece que cuando se llegue a la temperatura nominal de esterilización, la amplitud de temperatura no debe exceder los +/- 2.5 °C respecto a la temperatura promedio. De la misma forma, la temperatura del punto frío y la temperatura promedio no deben diferir en más de 1.0 °C. 17,36

4.5.2 Procedimiento para estudio de distribución de calor.

Para realizar el estudio de distribución de calor en cámara vacía deben seguirse los siguientes puntos:

1. Calibración de los termopares.
2. Colocación de termopares en la cámara.
3. Identificación de la ubicación de los termopares.
4. Corrida del ciclo con al menos tres repeticiones.
5. Análisis estadístico de resultados.

1. Calibración de los termopares.

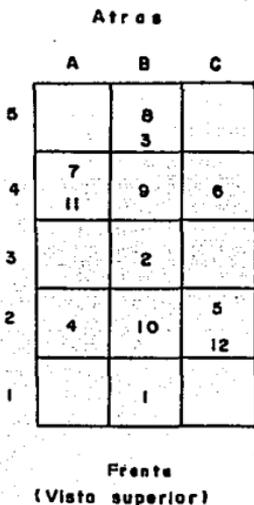
Ya se ha hecho la descripción de este procedimiento, recordemos que se realiza en el laboratorio teniendo los termopares conectados al procesador multipunto y teniendo el Ice point y el HTR a temperaturas de referencia (en nuestro caso a $0.00\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $121.1\text{ }^{\circ}\text{C}$). El error máximo permitido respecto al RTD debe ser menor a $\pm 0.1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en todo el rango de 0.0 a $121.1\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2. Colocación de los termopares.

Los termopares deben colocarse en la cámara del autoclave a través del conducto del termopar del autoclave o a través del empaque de la puerta (dependiendo de la disponibilidad de un empaque convenientemente preparado) a fin de que no se lastimen los termopares y se dé lugar a lecturas falsas. Los termopares pueden pegarse a las paredes de la cámara teniendo especial cuidado de que la punta del termopar no toque ninguna pieza de metal, sino que quede libre al aire. 37

A continuación se presentan los puntos 3 (figura 21), 4 (tablas VII, VIII y IX) y 5 (tabla No.XII).

Fig.21 Ubicacion de termopares estudio distribución calor
(Camara sin carga)



U B I C A C I O N	
Termopar	Clave
Tp 1	B-1-F
Tp 2	B-3-F
Tp 3	B-5-F
Tp 4	A-2-E
Tp 5	C-2-E
Tp 6	C-4-E
Tp 7	A-4-E
Tp 8	B-5-E
Tp 9	B-4-E
Tp 10	B-2-E
Tp 11	A-4-D
Tp 12	C-2-D

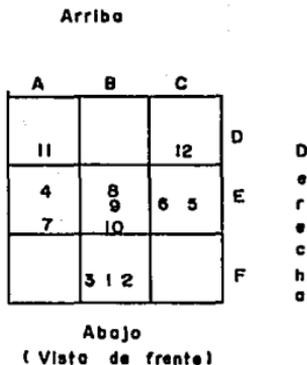
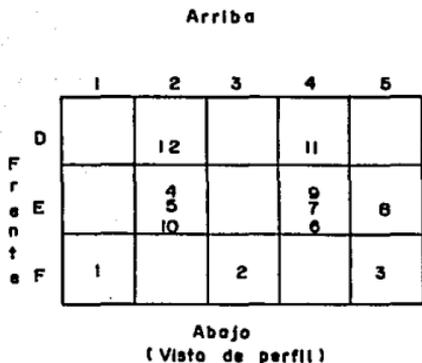


Tabla VII Ciclo No.1 Estudio de Distribución de calor
(Cámara vacía)

HORA	Yp1	Yp2	Yp3	Yp4	Yp5	Yp6	Yp7	Yp8	Yp9	Yp10	Yp11	Yp12	Min.	Máx.	Di.	Prem.	Fa.
13:01	85.4 0.000 0.00	87.1 0.000 0.00	88.8 0.001 0.00	90.6 0.001 0.00	92.3 0.001 0.00	94.0 0.002 0.00	94.5 0.002 0.00	92.8 0.002 0.00	91.1 0.001 0.00	89.4 0.001 0.00	87.7 0.000 0.00	86.0 0.000 0.00	85.4	94.5	9.1	90.0	0.00
13:02	87.9 0.000 0.00	89.5 0.001 0.00	91.1 0.001 0.00	92.7 0.001 0.00	94.3 0.002 0.00	95.9 0.003 0.00	96.4 0.003 0.00	94.8 0.002 0.00	93.2 0.002 0.00	91.6 0.001 0.00	90.0 0.001 0.00	88.4 0.001 0.00	87.9	96.4	8.5	92.2	0.00
13:03	92.0 0.001 0.00	93.4 0.002 0.00	94.8 0.002 0.00	96.2 0.003 0.00	97.6 0.005 0.01	99.1 0.006 0.01	99.5 0.007 0.01	98.1 0.005 0.01	96.7 0.004 0.00	95.3 0.003 0.00	93.9 0.002 0.00	92.5 0.001 0.00	92.0	99.5	7.5	95.8	0.00
13:04	97.5 0.004 0.00	98.8 0.006 0.01	99.8 0.008 0.01	100.9 0.010 0.01	102.1 0.013 0.01	103.3 0.017 0.02	103.8 0.010 0.02	102.5 0.014 0.02	101.4 0.011 0.01	100.2 0.008 0.01	99.1 0.006 0.01	97.9 0.006 0.005	97.5	103.6	6.1	100.6	0.00
13:05	102.9 0.018 0.01	103.9 0.019 0.02	104.8 0.024 0.02	105.6 0.029 0.03	106.5 0.036 0.04	107.5 0.044 0.05	107.8 0.048 0.06	106.9 0.039 0.04	106 0.032 0.04	105.1 0.025 0.03	104.2 0.021 0.02	103.3 0.017 0.02	102.9	107.6	4.9	105.4	0.01
13:06	107.7 0.047 0.05	108.4 0.055 0.06	109.1 0.063 0.07	109.8 0.075 0.08	110.4 0.088 0.1	111.1 0.103 0.1	111.4 0.109 0.11	110.7 0.093 0.11	110.1 0.083 0.09	109.3 0.068 0.07	108.7 0.059 0.06	108 0.055 0.05	107.7	111.4	3.7	109.6	0.05
13:07	111.3 0.107 0.12	111.9 0.122 0.14	112.4 0.139 0.17	112.9 0.154 0.2	113.4 0.173 0.23	113.9 0.197 0.28	114.1 0.204 0.29	113.6 0.182 0.25	113.2 0.165 0.21	112.5 0.142 0.18	112.2 0.131 0.16	111.8 0.115 0.15	111.3	114.1	2.8	112.8	0.12
13:08	114.3 0.212 0.29	114.7 0.235 0.33	115.1 0.26 0.38	115.4 0.277 0.42	115.8 0.301 0.48	116.2 0.333 0.55	116.4 0.343 0.58	116 0.315 0.5	115.7 0.295 0.45	115 0.262 0.36	114.5 0.25 0.35	114.3 0.226 0.31	114.3	116.4	2.1	115.4	0.29
13:09	116.4 0.348 0.57	116.7 0.374 0.84	117.1 0.405 0.72	117.3 0.423 0.78	117.5 0.449 0.86	117.9 0.488 0.97	118 0.496 1.01	117.7 0.467 0.91	117.5 0.448 0.83	117.1 0.406 0.73	117 0.397 0.69	116.6 0.366 0.61	116.4	118.0	1.6	117.2	0.57
13:10	118.0 0.503 1.01	118.3 0.536 1.11	118.6 0.571 1.22	118.7 0.584 1.29	118.9 0.610 1.40	119.1 0.648 1.55	119.2 0.659 1.60	119.0 0.631 1.47	120.6 0.902 2.94	120.3 0.845 2.68	120.4 0.853 2.65	120.2 0.826 2.47	118.0	120.6	2.6	119.3	2.34
13:11	119.2 0.658 1.60	119.4 0.690 1.74	119.8 0.727 1.88	119.7 0.734 1.97	119.8 0.757 2.10	120.0 0.797 2.29	120.1 0.805 2.34	119.9 0.781 2.19	121.1 1.013 3.91	120.8 0.954 3.59	120.9 0.901 3.56	120.8 0.945 3.37	119.2	121.1	1.9	120.1	3.19
13:12	120.0 0.788 2.34	120.1 0.821 2.50	120.3 0.857 2.69	120.3 0.858 2.78	120.4 0.877 2.93	120.6 0.918 3.18	120.7 0.923 3.24	120.6 0.903 3.04	121.5 1.110 4.98	121.2 1.050 4.61	121.4 1.067 4.53	121.2 1.051 4.36	120.0	121.5	1.5	120.7	4.18
13:13	120.8 0.900 3.19	120.7 0.934 3.40	120.9 0.970 3.61	120.8 0.964 3.70	120.9 0.980 3.87	121.1 1.017 4.14	121.1 1.023 4.20	121.0 1.007 4.01	121.7 1.178 6.13	121.5 1.118 5.70	121.6 1.156 5.75	121.5 1.240 5.48	120.5	121.7	1.2	121.1	5.20
13:14	121.0 1.002 4.15	121.2 1.035 4.39	121.3 1.070 4.64	121.2 1.058 4.72	121.3 1.069 4.90	121.4 1.105 5.21	121.4 1.109 5.28	121.4 1.097 5.07	122.0 1.245 7.35	121.7 1.184 6.86	121.9 1.234 6.97	121.8 1.201 6.87	121.0	122.0	1.0	121.5	6.32
13:15	121.3 1.072 5.20	121.4 1.105 5.47	121.6 1.138 5.76	121.5 1.121 5.82	121.5 1.151 6.01	121.7 1.164 6.35	121.7 1.167 6.42	121.6 1.159 6.21	122.1 1.297 8.63	121.9 1.237 8.07	122.1 1.292 8.24	122.0 1.260 7.88	121.3	122.1	0.6	121.7	7.50
13:16	121.8 1.148 6.32	121.7 1.177 6.62	121.8 1.210 6.94	121.7 1.188 6.98	121.6 1.193 7.18	121.9 1.226 7.55	121.9 1.228 7.63	121.9 1.222 7.40	122.2 1.332 9.94	122.0 1.332 9.33	122.2 1.330 9.55	122.1 1.299 9.17	121.6	122.2	0.6	121.9	8.72
13:17	121.6 1.203 7.50	121.9 1.233 7.83	122.0 1.264 8.16	121.9 1.239 8.20	121.9 1.241 8.40	122.0 1.273 8.81	122.1 1.274 8.88	122.1 1.271 8.66	122.3 1.362 11.29	122.1 1.301 10.62	122.3 1.363 10.90	122.2 1.333 10.49	121.8	122.3	0.5	122.0	9.98

TABLE VII. CONTINUED

HORA	Yp1	Yp2	Yp3	Yp4	Yp5	Yp6	Yp7	Yp8	Yp9	Yp10	Yp11	Yp12	Mln.	Mkt.	Gf.	Prom.	Fo.
13-18	121.9 1.240 8.72	122.0 1.270 9.06	122.1 1.300 9.47	122.2 1.272 9.46	122.0 1.272 9.66	122.1 1.303 10.10	122.2 1.303 10.17	122.1 1.302 9.95	122.4 1.364 12.67	122.2 1.323 11.93	122.4 1.323 12.28	122.3 1.358 11.83	121.9	122.4	0.5	122.1	11.27
13-19	122.0 1.317 9.96	122.1 1.302 10.37	122.2 1.332 10.79	122.1 1.301 10.75	122.1 1.300 10.95	122.2 1.329 11.41	122.2 1.330 11.49	122.2 1.329 11.26	122.5 1.402 14.06	122.3 1.341 15.27	122.5 1.408 13.86	122.4 1.374 13.20	122.0	122.5	0.5	122.2	12.58
13-20	122.1 1.297 11.27	122.2 1.326 11.69	122.3 1.355 12.13	122.2 1.322 12.06	122.2 1.320 12.26	122.3 1.349 12.76	122.3 1.349 12.83	122.3 1.350 12.61	122.5 1.418 15.47	122.3 1.356 14.82	122.5 1.424 15.09	122.4 1.395 14.59	122.1	122.5	0.4	122.3	13.90
13-21	122.2 1.317 12.58	122.3 1.345 13.03	122.4 1.370 13.50	122.3 1.339 13.39	122.3 1.336 13.59	122.4 1.365 14.11	122.3 1.364 14.19	122.4 1.367 13.97	122.5 1.428 16.90	122.4 1.368 15.98	122.6 1.437 16.53	122.5 1.409 16.00	122.2	122.6	0.4	122.4	15.25
13-22	122.2 1.333 13.90	122.3 1.361 14.36	122.4 1.389 14.88	122.3 1.353 14.74	122.3 1.350 14.94	122.9 1.378 15.40	122.4 1.378 15.56	122.4 1.380 15.34	122.6 1.438 18.33	122.4 1.378 17.35	122.8 1.425 17.97	122.5 1.420 17.41	122.2	122.9	0.7	122.4	16.60
13-23	122.3 1.346 15.25	122.4 1.374 15.75	122.5 1.401 16.26	122.4 1.365 16.10	122.3 1.361 16.29	122.4 1.388 16.87	122.4 1.387 16.95	122.4 1.391 16.73	122.8 1.445 19.77	122.4 1.445 18.73	122.6 1.456 19.42	122.5 1.428 18.84	122.3	122.8	0.3	122.4	17.96
13-24	122.3 1.357 16.80	122.4 1.384 17.13	122.5 1.412 17.69	122.4 1.374 17.47	122.4 1.369 17.66	122.5 1.397 18.26	122.5 1.395 18.34	122.5 1.400 18.13	122.8 1.450 21.22	122.4 1.388 20.12	122.6 1.461 20.88	122.6 1.433 20.27	122.3	122.8	0.3	122.5	19.33
13-25	122.4 1.365 17.96	122.4 1.382 18.52	122.5 1.419 19.10	122.4 1.381 18.83	122.4 1.376 19.03	122.5 1.403 19.67	122.5 1.401 19.74	122.5 1.407 19.53	122.8 1.453 22.67	122.4 1.393 21.51	122.7 1.465 22.35	122.6 1.437 21.60	122.4	122.7	0.3	122.5	20.70
13-26	122.4 1.370 19.33	122.5 1.397 19.91	122.5 1.424 20.52	122.4 1.386 20.23	122.4 1.380 20.41	122.5 1.407 21.07	122.5 1.405 21.14	122.5 1.411 20.94	122.8 1.456 24.13	122.4 1.390 22.91	122.7 1.468 23.81	122.6 1.440 23.14	122.4	122.7	0.3	122.5	22.06
13-27	122.4 1.374 20.70	122.5 1.400 21.31	122.5 1.428 21.95	122.4 1.389 21.62	122.4 1.383 21.60	122.5 1.410 22.48	122.5 1.408 22.55	122.5 1.414 22.35	122.8 1.458 25.59	122.5 1.408 24.30	122.7 1.471 25.28	122.6 1.443 24.58	122.4	122.7	0.3	122.5	23.45
13-28	122.4 1.377 22.06	122.5 1.403 22.71	122.6 1.430 23.38	122.4 1.392 23.01	122.4 1.386 23.18	122.5 1.413 23.89	122.5 1.411 23.96	122.5 1.417 23.77	122.8 1.460 27.05	122.8 1.400 25.70	122.7 1.473 26.75	122.6 1.445 26.03	122.4	122.7	0.3	122.5	24.83
13-29	122.4 1.379 23.45	122.5 1.406 24.12	122.6 1.433 24.81	122.4 1.394 24.40	122.4 1.388 24.57	122.5 1.415 25.31	122.5 1.413 25.37	122.5 1.419 25.18	122.8 1.462 28.51	122.5 1.401 27.10	122.7 1.475 28.23	122.6 1.447 27.46	122.4	122.7	0.3	122.5	26.22
13-30	122.4 1.381 24.83	122.5 1.408 25.53	122.6 1.435 26.25	122.4 1.396 25.80	122.4 1.340 25.96	122.5 1.416 26.72	122.5 1.414 26.78	122.5 1.420 26.60	122.8 1.463 29.97	122.5 1.403 28.51	122.7 1.476 29.70	122.6 1.448 28.92	122.4	122.7	0.3	122.5	27.80
13-31	122.4 1.383 26.22	122.5 1.409 26.94	122.6 1.436 27.66	122.4 1.397 27.20	122.4 1.391 27.35	122.5 1.417 28.14	122.5 1.415 28.20	122.5 1.422 28.03	122.8 1.464 31.43	122.5 1.403 29.91	122.7 1.477 31.18	122.6 1.450 30.37	122.4	122.7	0.3	122.5	28.99
13-32	122.4 1.385 27.60	122.5 1.411 28.35	122.6 1.438 29.12	122.5 1.398 28.58	122.4 1.392 28.74	122.5 1.419 29.56	122.5 1.417 29.61	122.5 1.423 29.45									
13-33	122.4 1.386 28.99	122.5 1.412 29.76	122.6 1.439 30.56	122.5 1.399 29.99	122.4 1.393 30.13	122.5 1.419 30.97	122.5 1.417 31.03	122.5 1.424 30.87									

Tabla 20 Ciclo No.2 Estudio de Distribución de calor

(cámara v o l a)

HORA	Tp1	Tp2	Tp3	Tp4	Tp5	Tp6	Tp7	Tp8	Tp9	Tp10	Tp11	Tp12	Mín.	Máx.	Dif.	Prom.	Fc.
7:10	87.1 0.033 0.03	89.3 0.041 0.04	90.0 0.044 0.04	90.7 0.047 0.04	91.5 0.053 0.05	93.5 0.063 0.06	93.8 0.063 0.06	92.8 0.060 0.06	92.8 0.059 0.06	91.1 0.048 0.05	90.8 0.047 0.05	90.2 0.045 0.05	87.1	93.8	6.5	91.1	0.03
7:11	89.8 0.043 0.06	90.8 0.048 0.09	91.8 0.052 0.10	92.4 0.056 0.10	93.3 0.062 0.12	94.9 0.068 0.14	95.0 0.073 0.14	94.7 0.073 0.13	93.6 0.071 0.12	92.5 0.057 0.11	91.3 0.050 0.10	91.0 0.049 0.09	89.8	95.0	5.2	92.6	0.06
7:12	92.1 0.055 0.13	93.1 0.060 0.15	94.2 0.067 0.16	94.8 0.069 0.17	95.1 0.074 0.19	97.3 0.092 0.23	99.1 0.110 0.25	96.9 0.088 0.22	95.2 0.075 0.20	94.7 0.071 0.18	93.9 0.065 0.17	92.3 0.058 0.15	99.1	7.0	94.9	0.13	
7:13	97.1 0.090 0.22	97.8 0.097 0.25	99.4 0.114 0.28	100.0 0.121 0.28	101.9 0.148 0.34	102.5 0.155 0.38	103.4 0.170 0.42	102.3 0.152 0.37	101.1 0.135 0.33	99.7 0.117 0.30	98.8 0.107 0.27	97.3 0.092 0.24	97.1	103.4	6.3	100.1	0.22
7:14	102.8 0.157 0.38	103.4 0.170 0.42	103.9 0.179 0.46	104.3 0.186 0.48	105.8 0.216 0.55	107.1 0.246 0.63	107.9 0.267 0.68	105.5 0.210 0.58	105.2 0.203 0.54	104.3 0.185 0.48	103.6 0.173 0.45	102.7 0.158 0.40	102.6	107.9	5.3	104.7	0.38
7:15	107.3 0.251 0.63	107.9 0.267 0.68	108.4 0.280 0.74	108.5 0.283 0.76	108.4 0.310 0.86	110.7 0.353 0.96	111.2 0.371 1.03	109.8 0.323 0.90	109.2 0.304 0.84	108.6 0.288 0.77	107.9 0.267 0.71	107.5 0.258 0.66	107.3	111.2	3.9	108.9	0.63
7:16	110.9 0.360 0.99	111.0 0.364 1.05	111.5 0.382 1.12	111.9 0.396 1.18	112.8 0.436 1.30	112.9 0.440 1.42	113.6 0.472 1.52	112.2 0.410 1.31	112.0 0.402 1.24	111.8 0.394 1.16	111.4 0.379 1.09	111.2 0.371 1.03	110.9	113.6	2.7	111.9	0.99
7:17	113.3 0.438 1.45	113.6 0.472 1.52	114.0 0.491 1.61	114.3 0.506 1.67	114.9 0.532 1.83	115.1 0.548 1.97	115.7 0.565 2.10	114.8 0.532 1.86	114.1 0.496 1.77	113.8 0.481 1.65	113.9 0.468 1.51	113.3	115.7	2.4	114.4	1.45	
7:18	115.1 0.548 2.00	115.7 0.562 2.10	116.2 0.612 2.22	116.5 0.631 2.30	116.8 0.650 2.48	116.9 0.657 2.63	117.2 0.677 2.78	116.5 0.631 2.54	116.5 0.606 2.40	116.1 0.594 2.28	115.8 0.578 2.17	115.6 0.578 2.09	115.1	117.2	2.1	116.3	2.00
7:19	116.6 0.637 2.63	117.3 0.683 2.78	117.8 0.718 2.94	117.8 0.718 3.02	117.9 0.726 3.21	118.0 0.733 3.36	118.3 0.755 3.54	118.1 0.740 3.28	117.8 0.718 3.12	117.6 0.704 2.97	117.3 0.683 2.85	117.0 0.663 2.72	116.6	118.3	1.7	117.6	2.63
7:20	117.5 0.697 3.33	117.8 0.718 3.50	118.0 0.734 3.73	118.0 0.734 3.83	118.1 0.818 4.02	118.2 0.828 4.19	118.2 0.828 4.36	118.0 0.826 4.11	118.0 0.794 3.82	118.0 0.783 3.73	117.9 0.773 3.58	117.9 0.728 3.45	117.5	118.2	1.7	118.0	3.33
7:21	118.2 0.748 4.08	118.5 0.771 4.27	118.9 0.802 4.54	119.3 0.835 4.66	118.8 0.878 4.90	120.0 0.895 5.09	120.1 0.904 5.27	119.9 0.895 5.00	119.5 0.886 4.80	119.1 0.852 4.56	118.6 0.818 4.40	118.2	120.1	1.9	119.3	4.08	
7:22	118.9 0.802 4.86	119.3 0.835 5.11	119.9 0.852 5.39	119.9 0.852 5.55	120.5 0.895 5.84	120.8 0.941 6.05	120.8 0.970 6.24	120.8 0.970 5.97	120.8 0.951 5.75	120.1 0.904 5.48	119.8 0.878 5.28	119.3 0.835 5.06	118.9	120.8	1.9	120.0	4.86
7:23	119.5 0.852 5.73	119.9 0.886 5.99	120.1 0.904 6.29	120.4 0.932 6.48	120.6 0.970 6.81	121.1 0.990 7.04	121.1 1.000 7.24	120.9 0.980 6.97	120.9 0.960 6.73	120.7 0.950 6.45	120.3 0.923 6.20	119.9 0.886 5.94	119.5	121.1	1.6	120.5	5.73
7:24	120.2 0.913 6.64	120.5 0.941 6.94	120.6 0.970 7.26	120.9 0.980 7.46	121.1 1.000 7.81	121.3 1.020 8.05	121.4 1.030 8.27	121.2 1.010 8.00	121.0 0.990 7.74	120.8 0.970 7.44	120.6 0.951 7.17	120.6 0.951 6.90	120.2	121.4	1.2	120.9	6.64
7:25	120.8 0.970 7.61	121.0 0.990 7.93	121.1 1.000 8.26	121.2 1.010 8.47	121.4 1.030 8.84	121.5 1.051 9.11	121.7 1.061 9.33	121.7 1.061 9.08	121.5 1.040 8.78	121.1 1.020 8.46	121.0 1.000 8.17	121.0 0.990 7.89	120.8	121.7	0.9	121.3	7.61
7:26	121.1 1.000 8.61	121.3 1.020 8.95	121.4 1.030 9.29	121.6 1.051 9.52	121.8 1.072 9.91	121.9 1.083 10.19	122.0 1.094 10.42	121.8 1.094 10.16	121.6 1.072 9.86	121.6 1.051 9.51	121.0 1.030 9.20	121.3 1.020 8.91	121.0	122.0	1.0	121.6	8.61

TABLE VIII

HCRA	Yp1	Yp2	Yp3	Yp4	Yp5	Yp6	Yp7	Yp8	Yp9	Yp10	Yp11	Yp12	Min.	Max.	Off.	Prom.	Fo.
7:27	121.3	121.5	121.6	121.6	122.0	122.1	122.2	122.1	122.0	122.0	121.8	121.6	121.3	122.2	0.9	121.8	9.67
	1.020	1.040	1.051	1.072	1.094	1.105	1.116	1.106	1.094	1.094	1.072	1.051					
	9.82	9.99	10.34	10.59	11.01	11.30	11.54	11.28	10.95	10.60	10.27	9.98					
7:28	121.3	121.6	121.8	122.0	122.1	122.2	122.2	122.1	122.1	122.0	121.8	121.3	122.2	0.9	122.0	10.64	
	1.020	1.051	1.072	1.094	1.105	1.116	1.116	1.105	1.105	1.094	1.072						
	10.64	11.04	11.41	11.69	12.11	12.42	12.85	12.38	12.05	11.71	11.37	11.03					
7:29	121.4	121.6	121.8	122.0	122.1	122.2	122.3	122.2	122.2	122.1	122.0	121.9	121.4	122.3	0.9	122.0	11.67
	1.030	1.051	1.072	1.094	1.105	1.116	1.127	1.116	1.116	1.105	1.094	1.083					
	11.67	12.09	12.49	12.78	13.22	13.53	13.78	13.50	13.17	12.81	12.46	12.11					
7:30	121.1	121.6	121.8	122.0	122.1	122.2	122.3	122.3	122.2	122.1	122.0	122.0	121.1	122.3	1.2	122.0	12.70
	1.030	1.051	1.072	1.094	1.105	1.116	1.127	1.127	1.116	1.105	1.094	1.094					
	12.70	13.14	13.56	13.87	14.32	14.65	14.91	14.62	14.29	13.93	13.56	13.21					
7:31	121.4	121.7	121.9	122.0	122.1	122.3	122.3	122.3	122.2	122.2	122.1	122.0	121.4	122.3	0.9	122.0	13.73
	1.030	1.061	1.083	1.094	1.105	1.127	1.127	1.127	1.116	1.116	1.105	1.094					
	13.73	14.20	14.64	14.97	15.43	15.77	16.03	15.75	15.40	15.03	14.66	14.30					
7:32	121.5	121.7	121.9	122.1	122.2	122.3	122.4	122.3	122.3	122.2	122.1	122.0	121.5	122.4	0.9	122.1	14.77
	1.040	1.061	1.083	1.105	1.116	1.127	1.138	1.127	1.116	1.116	1.105	1.094					
	14.77	15.26	15.72	16.07	16.54	16.90	17.17	16.88	16.52	16.15	15.77	15.39					
7:33	121.5	121.7	121.9	122.1	122.2	122.3	122.4	122.3	122.2	122.2	122.1	122.0	121.5	122.4	0.9	122.1	15.81
	1.040	1.061	1.083	1.105	1.116	1.127	1.138	1.127	1.116	1.116	1.105	1.094					
	15.81	16.32	16.81	17.16	17.66	18.03	18.31	18.00	17.63	17.26	16.87	16.49					
7:34	121.5	121.7	121.9	122.1	122.2	122.3	122.4	122.3	122.2	122.2	122.1	122.0	121.5	122.4	0.9	122.1	16.85
	1.040	1.061	1.083	1.105	1.116	1.127	1.138	1.127	1.127	1.116	1.116	1.105					
	16.85	17.38	17.89	18.28	18.78	19.16	19.45	19.13	18.76	18.39	17.99	17.59					
7:35	121.6	121.9	122.0	122.2	122.3	122.4	122.5	122.4	122.3	122.2	122.2	122.1	121.6	122.5	0.9	122.2	17.91
	1.051	1.063	1.094	1.116	1.127	1.138	1.150	1.138	1.127	1.116	1.116	1.105					
	17.91	18.47	18.99	19.40	19.90	20.29	20.60	20.27	19.89	19.50	19.10	18.70					
7:36	121.6	121.9	122.0	122.2	122.3	122.4	122.5	122.4	122.4	122.2	122.1	122.1	121.6	122.5	0.9	122.2	18.96
	1.051	1.063	1.094	1.116	1.127	1.138	1.150	1.138	1.126	1.116	1.105	1.105					
	18.96	19.55	20.06	20.51	21.03	21.43	21.75	21.41	21.03	20.61	20.21	19.80					
7:37	121.7	122.0	122.1	122.2	122.4	122.5	122.6	122.5	122.4	122.3	122.2	122.1	121.7	122.6	0.9	122.3	20.02
	1.061	1.094	1.105	1.116	1.138	1.150	1.161	1.150	1.138	1.127	1.116	1.105					
	20.02	20.64	21.18	21.63	22.17	22.58	22.91	22.59	22.16	21.74	21.32	20.92					
7:38	121.7	122.0	122.1	122.2	122.3	122.4	122.5	122.6	122.4	122.3	122.3	122.2	121.7	122.6	0.9	122.3	21.08
	1.061	1.094	1.105	1.116	1.138	1.150	1.161	1.150	1.138	1.127	1.127	1.116					
	21.08	21.74	22.29	22.75	23.31	23.73	24.07	23.71	23.30	22.87	22.45	22.07					
7:39	121.8	122.1	122.3	122.4	122.5	122.5	122.6	122.6	122.5	122.4	122.3	122.2	121.8	122.6	0.8	122.4	22.15
	1.072	1.105	1.127	1.138	1.150	1.150	1.161	1.161	1.150	1.138	1.127	1.116					
	22.15	22.84	23.42	23.88	24.46	24.88	25.23	24.87	24.45	24.00	23.56	23.18					
7:40	121.8	122.1	122.3	122.4	122.5	122.5	122.7	122.6	122.5	122.4	122.3	122.3	121.8	122.7	0.9	122.4	23.22
	1.072	1.105	1.127	1.138	1.150	1.150	1.173	1.161	1.150	1.138	1.127	1.127					
	23.22	23.95	24.54	25.02	25.61	26.03	26.40	26.03	25.60	25.14	24.70	24.31					
7:41	121.9	122.2	122.4	122.4	122.5	122.6	122.7	122.6	122.5	122.4	122.4	122.3	121.9	122.7	0.8	122.4	24.30
	1.063	1.116	1.138	1.138	1.150	1.161	1.173	1.161	1.150	1.138	1.138	1.127					
	24.30	25.06	25.68	26.18	26.76	27.19	27.56	27.19	26.75	26.29	25.84	25.43					
7:42	121.9	122.2	122.4	122.4	122.5	122.6	122.7	122.7	122.6	122.5	122.4	122.4	121.9	122.7	0.8	122.4	25.39
	1.063	1.116	1.138	1.138	1.150	1.161	1.173	1.173	1.161	1.150	1.138	1.138					
	25.39	26.16	26.82	27.30	27.91	28.35	28.75	28.36	27.91	27.43	26.98	26.57					
7:43	122.0	122.3	122.4	122.5	122.5	122.8	122.7	122.7	122.6	122.5	122.5	122.5	122.0	122.7	0.7	122.5	26.48
	1.094	1.127	1.138	1.150	1.161	1.181	1.173	1.173	1.161	1.150	1.150	1.150					
	26.48	27.31	27.95	28.45	29.07	29.51	29.92	29.54	29.07	28.58	28.13	27.72					

TABLE VIII. CONTINUED.

HORA	TP1	TP2	TP3	TP4	TP5	TP6	TP7	TP8	TP9	TP10	TP11	TP12	Min.	Max.	Dif.	Prom.	Po.
7:44	122.0	122.3	122.4	122.5	122.6	122.6	122.7	122.7	122.6	122.5	122.5	122.5	122.0	122.7	0.7	122.5	27.56
	1.094	1.127	1.138	1.150	1.161	1.161	1.173	1.173	1.161	1.150	1.150	1.150					
7:45	122.0	122.3	122.4	122.5	122.6	122.6	122.7	122.7	122.6	122.5	122.5	122.5	122.0	122.7	0.7	122.5	26.67
	1.094	1.127	1.138	1.150	1.161	1.161	1.173	1.173	1.161	1.150	1.150	1.150					
7:46	122.0	122.3	122.4	122.5	122.6	122.6	122.7	122.7	122.6	122.5	122.5	122.5	122.0	122.7	0.7	122.5	29.76
	1.094	1.127	1.138	1.150	1.161	1.161	1.173	1.173	1.161	1.150	1.150	1.150					
7:47	122.0	122.3	122.4	122.5	122.6	122.6	122.7	122.7	122.6	122.5	122.5	122.5	122.0	122.7	0.7	122.5	30.85
	1.094	1.127	1.138	1.150	1.161	1.161	1.173	1.173	1.161	1.150	1.150	1.150					
	27.56	28.43	29.09	29.80	30.23	30.68	31.10	30.71	30.24	29.73	29.26	28.67					
	28.67	29.55	30.22	30.75	31.39	31.84	32.27	31.86	31.40	30.88	30.43	30.02					
	29.76	30.67	31.35	31.90	32.55	33.00	33.44	33.05	32.56	32.03	31.56	31.17					
	30.85	31.79	32.48	33.05	33.71	34.16	34.61	34.61	33.72	33.18	32.73	32.32					

Table 12

HOHR	Yp1	Yp2	Yp3	Yp4	Yp5	Yp6	Yp7	Yp8	Yp9	Yp10	Yp11	Yp12	Mn.	Max.	DH	Prom.	Fo.
7:47	121.5 1.040 10.50	121.5 1.040 10.80	121.6 1.061 10.85	121.7 1.061 11.00	121.8 1.072 11.28	122.0 1.094 11.53	122.2 1.116 12.06	122.1 1.105 11.89	122.1 1.101 11.35	122.0 1.094 11.22	121.9 1.094 11.06	121.9 1.063 10.89	121.5	122.2	0.7	121.9	10.50
7:48	121.6 1.091 11.93	121.7 1.061 11.96	121.9 1.063 11.93	121.9 1.063 12.09	122.0 1.063 12.30	122.1 1.105 12.64	122.3 1.127 13.22	122.2 1.116 12.71	122.2 1.105 12.46	122.0 1.094 12.31	121.9 1.063 12.14	121.9 1.063 11.98	121.6	122.1	0.7	122.0	11.55
7:49	121.7 1.061 12.81	121.7 1.061 12.72	121.8 1.072 13.00	121.9 1.063 13.17	122.1 1.105 13.46	122.2 1.116 13.76	122.2 1.138 14.36	122.2 1.138 13.89	122.2 1.116 13.57	122.1 1.116 13.43	122.0 1.105 13.25	121.7 1.094 13.07	121.7	122.4	0.7	122.1	12.61
7:50	121.8 1.072 13.68	121.8 1.072 13.79	121.9 1.063 14.06	122 1.094 14.26	122.2 1.116 14.58	122.2 1.116 14.87	122.4 1.138 15.49	122.3 1.127 14.96	122.2 1.116 14.69	122.2 1.116 14.54	122.1 1.105 14.35	122 1.094 14.17	121.8	122.4	0.8	122.1	13.68
7:51	121.9 1.063 14.77	121.9 1.063 14.88	122.0 1.064 15.16	122.1 1.105 15.37	122.2 1.116 15.70	122.3 1.127 16.00	122.4 1.138 16.53	122.4 1.138 16.10	122.3 1.127 15.82	122.2 1.116 15.66	122.1 1.105 15.46	122.1 1.105 15.27	121.9	122.4	0.5	122.2	14.77
7:52	122.0 1.094 15.86	122.1 1.105 15.96	122.1 1.105 16.26	122.2 1.116 16.48	122.2 1.116 16.81	122.3 1.127 17.13	122.5 1.138 17.76	122.4 1.138 17.24	122.3 1.127 16.94	122.2 1.116 16.78	122.1 1.105 16.57	122.0 1.105 16.38	122.0	122.5	0.5	122.2	15.86
7:53	122.1 1.108 16.97	122.1 1.108 17.09	122.2 1.116 17.40	122.3 1.127 17.61	122.3 1.127 17.94	122.4 1.138 18.26	122.5 1.150 18.93	122.5 1.150 18.39	122.4 1.138 18.06	122.4 1.138 17.92	122.2 1.127 17.70	122.2 1.116 17.49	122.1	122.5	0.4	122.3	16.97
7:54	122.1 1.105 18.07	122.2 1.116 18.20	122.3 1.127 18.53	122.3 1.127 18.74	122.4 1.138 19.07	122.5 1.150 19.40	122.5 1.150 20.06	122.5 1.150 19.54	122.5 1.138 19.22	122.3 1.138 19.06	122.2 1.127 18.83	122.1 1.116 18.61	122.0	122.5	0.4	122.3	18.07
7:55	122.1 1.105 19.18	122.2 1.116 19.32	122.3 1.127 19.65	122.3 1.127 19.86	122.4 1.138 20.20	122.5 1.150 20.55	122.5 1.161 21.24	122.5 1.150 20.69	122.5 1.138 20.37	122.4 1.138 20.20	122.3 1.127 19.98	122.2 1.116 19.73	122.1	122.5	0.5	122.4	19.18
7:56	122.2 1.116 20.29	122.2 1.116 20.44	122.3 1.127 20.76	122.4 1.138 21.00	122.4 1.138 21.34	122.5 1.150 21.70	122.5 1.161 22.40	122.5 1.150 21.84	122.5 1.138 21.52	122.4 1.138 21.36	122.3 1.127 21.10	122.2 1.116 20.86	122.2	122.6	0.4	122.4	20.29
7:57	122.2 1.116 21.41	122.2 1.116 21.55	122.3 1.127 21.91	122.4 1.138 22.14	122.4 1.138 22.48	122.5 1.150 22.85	122.5 1.161 23.57	122.5 1.150 23.00	122.5 1.138 22.67	122.4 1.138 22.50	122.4 1.138 22.24	122.2 1.116 22.00	122.2	122.6	0.4	122.4	21.41
7:58	122.3 1.127 22.54	122.3 1.127 22.66	122.4 1.138 23.05	122.4 1.138 23.26	122.5 1.150 23.63	122.6 1.161 24.01	122.6 1.161 24.73	122.6 1.161 24.18	122.5 1.150 23.82	122.5 1.138 23.65	122.4 1.138 23.39	122.3 1.127 23.14	122.3	122.6	0.3	122.5	22.54
7:59	122.3 1.127 23.68	122.3 1.127 23.81	122.4 1.138 24.16	122.5 1.150 24.43	122.5 1.150 24.78	122.6 1.161 25.17	122.7 1.173 25.90	122.7 1.161 25.32	122.5 1.150 24.97	122.5 1.138 24.80	122.4 1.138 24.54	122.3 1.127 24.28	122.3	122.7	0.4	122.5	23.68
8:00	122.4 1.138 24.80	122.4 1.138 24.94	122.5 1.150 25.33	122.5 1.150 25.58	122.6 1.161 25.94	122.6 1.161 26.34	122.7 1.173 27.07	122.7 1.161 26.50	122.6 1.150 26.13	122.4 1.138 25.89	122.4 1.138 25.60	122.3 1.127 25.41	122.4	122.7	0.3	122.5	24.80
8:01	122.4 1.138 26.94	122.4 1.138 26.06	122.5 1.150 26.44	122.5 1.150 26.73	122.6 1.161 27.10	122.7 1.173 27.51	122.7 1.173 28.25	122.7 1.161 27.67	122.6 1.150 27.29	122.5 1.138 27.12	122.5 1.138 26.84	122.5 1.138 26.56	122.4	122.7	0.3	122.6	25.94
8:02	122.4 1.138 27.06	122.4 1.138 27.22	122.5 1.150 27.63	122.5 1.150 27.89	122.6 1.161 28.26	122.7 1.173 28.66	122.7 1.173 29.96	122.7 1.161 29.43	122.6 1.150 28.29	122.5 1.138 28.00	122.5 1.138 27.71	122.4 1.138 27.41	122.4	122.7	0.3	122.6	27.06
8:03	122.4 1.138 28.21	122.5 1.150 28.37	122.6 1.161 28.79	122.6 1.161 29.05	122.7 1.173 29.42	122.7 1.173 29.85	122.7 1.173 31.16	122.7 1.161 30.02	122.6 1.150 29.43	122.5 1.138 29.44	122.4 1.138 29.16	122.3 1.127 28.86	122.4	122.8	0.4	122.6	28.21

HORA	Yp1	Yp2	Yp3	Yp4	Yp5	Yp6	Yp7	Yp8	Yp9	Yp10	Yp11	Yp12	Mín.	Máx.	Dif.	Prom.	Fc.
8:04	122.8 1.150 29.36	122.8 1.150 29.52	122.8 1.161 29.96	122.7 1.173 30.22	122.7 1.173 30.80	122.7 1.185 31.03	122.8 1.185 32.33	122.7 1.173 31.19	122.7 1.173 30.60	122.7 1.173 30.62	122.8 1.161 30.32	122.6 1.161 30.02	122.8	122.8	0.3	122.7	29.36
8:05	122.8 1.150 30.51	122.8 1.161 30.68	122.8 1.161 31.12	122.7 1.173 31.40	122.7 1.173 31.77	122.8 1.185 32.21	122.8 1.185 33.53	122.8 1.185 32.37	122.7 1.173 31.79	122.7 1.173 31.79	122.8 1.161 31.48	122.6 1.161 31.19	122.8	122.8	0.3	122.7	30.51

Figura 22. Perfil de temperaturas máximas y mínimas en cámara sin carga, ciclo No 1

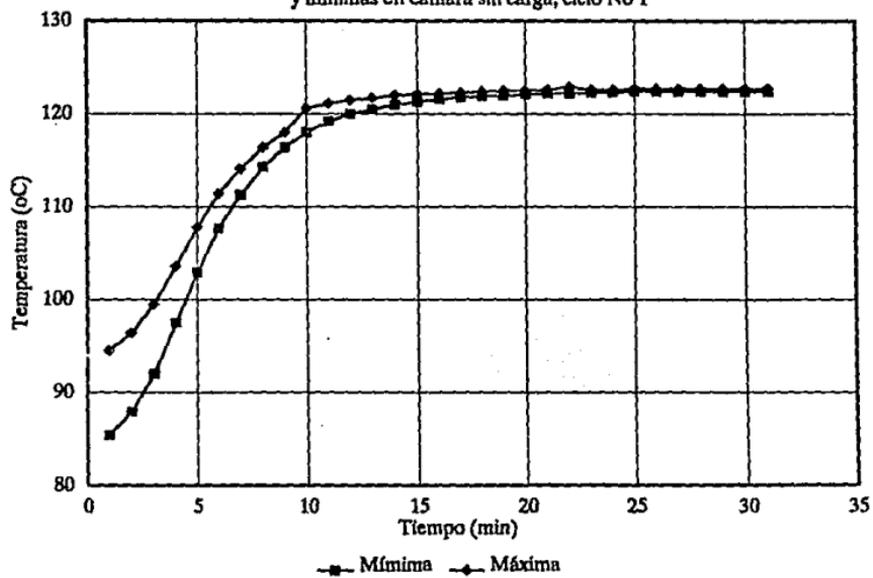


Figura 23. Perfil de temperaturas máximas y mínimas en cámara sin carga, ciclo No 2.

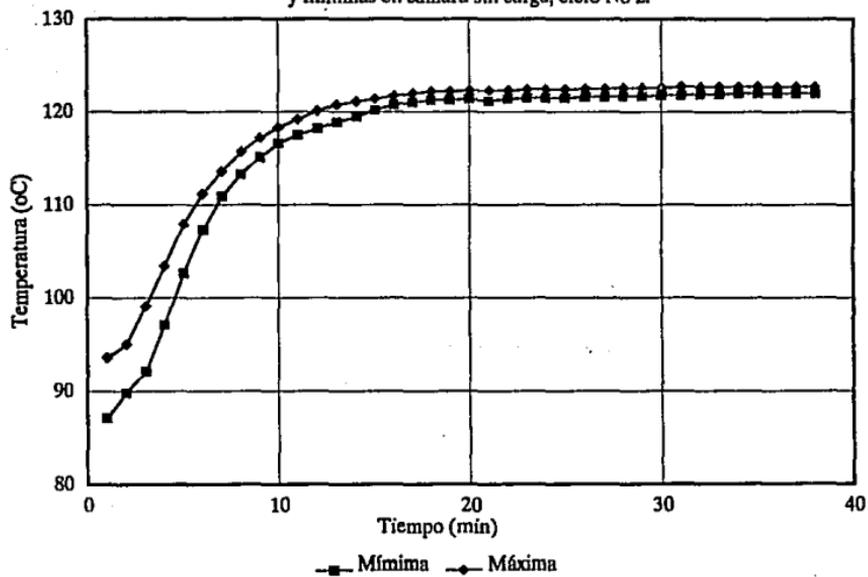


Figura 24. Perfil de temperaturas máximas y mínimas en cámara sin carga, ciclo No 3.

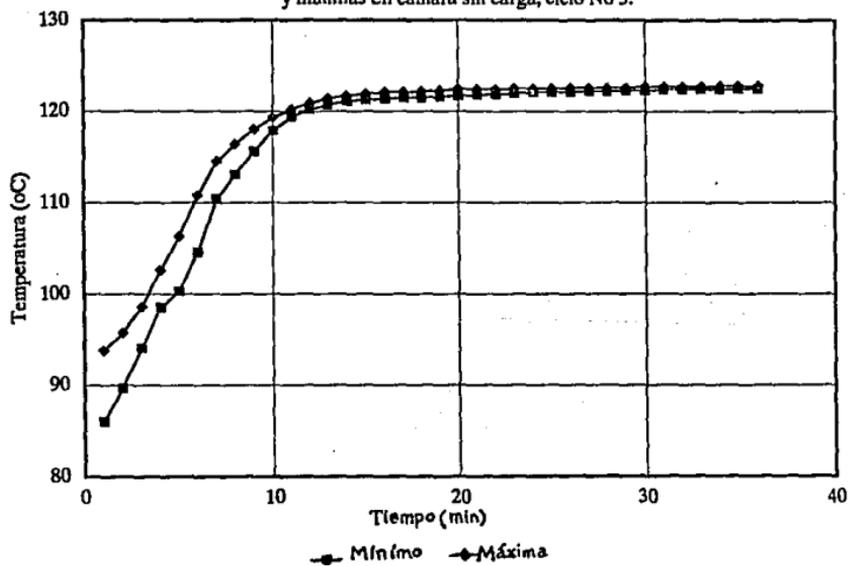


TABLA No. X

Ubicación de puntos fríos y calientes en el estudio de distribución de calor (cámara vacía).

	punto frío		punto caliente	
	Tp	Frecuencia	Tp	Frecuencia
Ciclo 1	1	33	11	17
	5	10	7	16
	4	6	9	15
	2	1	6	2
	10	1	12	1
Ciclo 2	1	35	7	35
			8	13
			6	3
Ciclo 3	1	36	7	36
	2	18	8	11
			6	4

4.6 Estudios de distribución de calor (cámara con carga).

4.6.1 Definición del patrón de carga.

El patrón de carga es un conjunto de materiales y/o productos que se van a introducir al autoclave a fin de esterilizarlos.

El patrón de carga está definido por la identificación de los objetos, su cantidad y su ubicación específica dentro de la cámara del autoclave. Un patrón de carga una vez definido no puede cambiarse sin su oportuna validación.

Cada industria debe definir los patrones de carga que empleará en su autoclave(s) dependiendo del tipo de productos y de sus necesidades específicas. Los materiales que comunmente se esterilizan por vapor son, por ejemplo: parenterales esterilizados terminalmente, eluentes, tapones de hule, conexiones de los equipos de llenado (jeringas, mangueras y conexiones varias), uniformes, portafiltros de membrana para filtración, botellones de agua, etc.

A continuación se muestra la figura 25 en la que se indica la ubicación de los materiales dentro de la cámara del autoclave.

Fig.26 Ubicación de la carga estudio de distribución de calor.

Atras

	A	B	C
5		8 3	
4	7 11	9	6
3		2	
2	4	10	5 12
1		1	

Frente.
(Vista superior)

Patron de carga:		
Material	Clave	Cant.
Uniformes	B-1-F	8
Uniformes	A-2-E	6
Portafiltro	B-4-E	2
Guantes	B-2-E	17
Guantes	A-4-D	10

Arriba

	1	2	3	4	5
D		12		11	
E		4 5 10		9 7 6	8
F	1		2		3

Abajo
(Vista de perfil)

Arriba

	A	B	C	
	11		12	D
	4	8 9	6 5	E
	7	10		F
		3 1 2		

Abajo
(Vista de frente)

4.6.2 Procedimiento

El procedimiento a seguir para realizar este estudio es el mismo que se siguió en el estudio de distribución de calor en cámara sin carga. Se debe respetar la ubicación de los termopares en la medida de lo posible. 37

4.6.3 Comparación con el estudio de cámara sin carga.

Es necesario establecer si la presencia de la carga ha modificado la distribución del calor dentro de la cámara. Para ello se realiza un análisis de variancia de las temperaturas obtenidas en los distintos termopares de los dos estudios.

Es posible que durante los primeros minutos se observen diferencias entre los dos estudios debido a que la carga se está calentando y aún no se logra el equilibrio dentro de la cámara. Sin embargo, lo que se debe observar es que durante el período de exposición no existan diferencias estadísticamente significativas, particularmente en la ubicación del punto frío dentro de la cámara.

4.6.4 Modificación al patrón de carga.

Se debera considerar la posibilidad de modificar el patrón de carga (en la distribución de la carga o en la cantidad de los objetos a esterilizar) cuando se encuentren diferencias significativas en la distribución de calor en la cámara y particularmente si el punto frío cambia de ubicación o se localiza una zona fría de gran tamaño, ya que se puede pensar que los objetos que componen la carga están impidiendo que el vapor circule adecuadamente alrededor de los materiales y ello pueda dar una carga no estéril.

Si se decide realizar una modificación al patrón de carga (en su ubicación o cantidad) se deberán repetir los estudios de distribución de calor en cámara con carga y obtenerse resultados reproducibles antes de aceptar estos estudios.

4.7 Estudios de penetración de calor (cámara con carga)

El propósito de este estudio es determinar el punto más frío dentro de una carga y configuración especificadas. Se originan puntos fríos debido a que varía la velocidad de transferencia de calor a través de la carga. Por ello es imperativo que los estudios de penetración de calor se realicen para determinar los puntos fríos dentro de un patrón de carga y asegurar que estos puntos son expuestos consistentemente a una letalidad por calor suficiente.

La forma de asegurar que todos los puntos de la carga reciben la letalidad suficiente es por la determinación de los valores F_0 y verificando el lugar donde se proporcione el F_0 mínimo. Se deben realizar al menos tres corridas en las que se obtengan resultados satisfactorios. Los resultados deben pasar una prueba de ANADEVA.

Los termopares se colocan tanto dentro como fuera de los contenedores que se encuentren en el punto más frío, en la línea del condensado. Podemos programar al procesador multipunto para que realice la determinación del valor F_0 . Una vez terminado el ciclo, el valor F_0 indicará si el ciclo es adecuado o no, o si es necesario realizar modificaciones en el patrón de carga.

El valor F_0 mínimo se basa solo en la destrucción de esporas microbianas. Se cree que un $F_0 = 8$ min. es un valor mínimo realista, ya que muchos de los microorganismos esporulados mesofílicos tienen valores de D menores o iguales a 0.5 min a 121 °C. Aún si el valor D a 121 °C fuera de 1.0 min, se lograría una reducción de 8 log. ⁸

El valor F_0 usado en el diseño de un ciclo de esterilización puede exceder con mucho el valor de 8. Un valor $F_0 = 12$ min proporcionará un factor de seguridad de 50% el cual tiene en cuenta el tiempo adicional que pudiera requerirse para que el vapor penetre a los contenedores en los puntos fríos. ⁸

4.7.1 Procedimiento.

El procedimiento a seguir involucra los siguientes pasos:

1. Calibración de los termopares.
2. Colocación de los termopares en la carga.
3. Identificación de la ubicación de los termopares en la carga.
4. Corrida del ciclo.
5. Análisis estadístico de resultados.

1. Calibración de los termopares.

Los termopares se calibran a dos temperaturas de referencia por lo menos. Generalmente son a 0.0 °C y a 121 °C con la ayuda del Ice Point, HTR, un RTD y su monitor. Las desviaciones que se permiten deben ser menores de 0.1 °C en todo el intervalo de temperaturas. Los termopares deben calibrarse antes y después de el estudio a fin de asegurar que las manipulaciones durante el estudio no han dado lugar a variaciones en las lecturas.

2. Colocación de los termopares en la carga.

Generalmente se divide el número de termopares que se van a emplear en el estudio de penetración de calor en dos: la mitad se colocan según se colocaron en los estudios de distribución de calor y la otra mitad se

coloca dentro de los paquetes o frascos que se van a esterilizar. Esto se muestra en la figura 26.

3. Identificación de la ubicación de los termopares en la carga.

Esto se realiza en la forma que nos resulte familiar según los estudios de distribución de calor que ya se han realizado y mostrado.

4. Corrida del ciclo.

El ciclo debe correrse en la forma establecida. Sin embargo, se debe programar el procesador multipunto para que registre los datos de temperatura cada minuto y para que realice el cálculo del valor F_0 en todos los termopares (o sólo en aquellos que se encuentran dentro de los paquetes a esterilizar) o pedirle que nos dé el F_0 más bajo que se registre en la carga, lo que equivaldría al punto más frío de la carga.

Se realizarán al menos tres corridas con los termopares ubicados en las mismas posiciones, permitiendo que después de cada corrida la temperatura de la cámara y de la carga bajen hasta los 30 °C o muy cerca a fin de evitar que se presente un efecto por la acumulación de calor, debido a realizar una corrida después de la anterior y sin haber dado tiempo para que el calor se disipe.

5. Análisis estadístico de resultados.

El análisis que se realiza es un ANADEV, como hemos presentado en los estudios de distribución de calor, sólo que se considerarán únicamente aquellos termopares que se han colocado dentro de la carga, conocidos como termopares "de penetración".

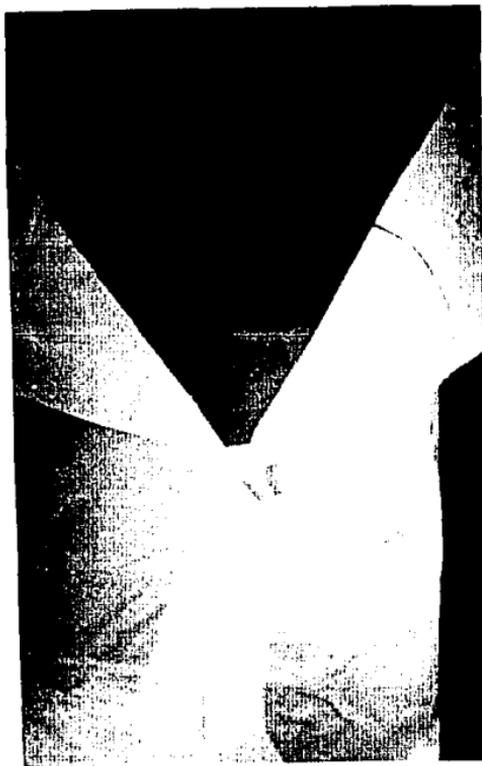


Figura 26 Colocación de un termopar dentro de un paquete.
Colocación de un termopar dentro de un frasco.

4.7.2 Comparación con el estudio de distribución.

Después de realizar los dos tipos de estudios, debe llegarse a la conclusión de que el punto más frío de la carga recibe una cantidad de calor suficiente para lograr el nivel deseado de esterilidad y que la carga, cantidad, material y ubicación, no influyen de manera negativa a la penetración de calor.

4.7.3 Modificación al patrón de carga.

Si después de realizar los estudios se observa que la presencia de la carga o su naturaleza (material y ubicación) impiden que toda la carga o aquellas unidades que se encuentran en el punto más frío reciben la letalidad suficiente, caben entonces dos opciones: modificar el patrón de carga a fin de facilitar la penetración de calor (ya sea reduciendo la carga o modificando su distribución dentro de la cámara) a todos los puntos de la carga; o la segunda es el incrementar el tiempo de exposición a fin de permitir que se alcance el equilibrio (aún cuando sea más lento).

Cualquiera de las opciones que se tomen, en caso de ser necesarias, implican la necesidad de repetir los estudios de penetración y obtener al menos tres corridas que den resultados satisfactorios antes de poder afirmar que el ciclo y el patrón de carga son apropiados para proporcionar la letalidad mínima requerida para lograr el nivel deseado o requerido de esterilidad.

4.8 Estudios de microbiología

4.8.1 Estudios de biocarga.

Los estudios de biocarga son necesarios para determinar la mínima cantidad de calor en un proceso de esterilización (F_0) que va a proporcionar una seguridad aceptable de esterilidad. El número y frecuencia de lotes que se deben probar debe determinarse por el fabricante basándose en las variaciones lote a lote que se presenten en la cuenta microbiana, el potencial de crecimiento microbiano antes del ciclo de esterilización, y las variaciones estacionales en la biocarga. Dependiendo del tipo o forma del producto, se encuentran disponibles varios métodos para la recuperación de microorganismos. Sin embargo, vamos a enfocarnos a las soluciones parenterales, ya que existen métodos comparables para otros productos. 17

1. Realice cuentas microbianas en un área conveniente para pruebas microbiológicas.
2. Filtre un volumen apropiado de la solución parenteral, muestreada del contenedor final, usando filtro de membrana de porosidad de 0.45 micrómetros. Se pueden usar métodos de cuenta en placa cuando el número de microorganismos en la solución es alto.
3. Incube los filtros sobre un medio de cultivo conveniente, tal como Agar Soya o Agar Tripticasa, a 30-35 °C durante por lo menos 72 horas.
4. Calcule el número de microorganismos por contenedor de la solución.¹⁷

4.8.2 Aparato para obtener datos de resistencia térmica.

Existen varios tipos de aparatos que permiten la determinación de datos de resistencia en forma exacta y reproducible.

Los dos tipos de aparatos más ampliamente usados son:

1. Baño de aceite o glicerina.

Se sumergen ampollitas selladas o tubos capilares que contienen una suspensión líquida en un baño de temperatura constante por un tiempo especificado.¹⁷

2. Autoclave o reactor miniatura.

El reactor miniatura es el equipo más versátil usado en la determinación de datos de resistencia térmica. Se pueden exponer una variedad de muestras (suspensiones en ampollitas, tiras de papel, esporas inoculadas en soportes sólidos y productos inoculados). Este tipo de aparato ofrece la ventaja de proporcionar un calentamiento rápido y un enfriamiento rápido durante el período de exposición.

4.8.3 Estudios de laboratorio del Valor D.

Cuando los productos termolábiles no pueden permanecer ni resistir tratamientos térmicos excesivos, los estudios del valor D de los microorganismos aislados del producto son necesarios para determinar el proceso de esterilización por calor mínimo (F_0) que proporcione una seguridad aceptable de la esterilización. Asimismo, los estudios del valor D son necesarios para la calibración de los indicadores biológicos (tales como esporas de *Clostridium sporogenes* y *Bacillus stearothermophilus*).

1. Los estudios del valor D deben realizarse sobre:

a) Los indicadores biológicos ya sea que se preparen en el propio laboratorio o que se adquieren comercialmente.

b) Los microorganismos termoresistentes aislados en el producto (aquellos organismos que se aíslan periódicamente de varios productos y que por medio de pruebas de tamizaje han mostrado ser termoresistentes).

2. Pruebas de tamizaje de termoresistencia para la biocarga del producto.

El propósito de las pruebas de tamizaje es seleccionar aquellos microorganismos termoresistentes para los cuales deben determinarse los valores D. A fin de diseñar una prueba de tamizaje deben tomarse en cuenta la letalidad del proceso (F_0) usada en la esterilización de

rutina y el número de microorganismos esperados en un producto dado. A continuación se indica una forma de tamizaje.

a) Someta la solución a un choque térmico por 10-15 minutos a 80-100 °C para eliminar las células vegetativas y para estimular la germinación de los microorganismos formadores de esporas.

b) Pase la solución tratada por el choque térmico a través de un filtro de membrana de 0.45 micrómetros. Incube aproximadamente la mitad del filtro en un medio aeróbico apropiado y la otra mitad en un medio para anaerobios.

c) Se deben caracterizar los sobrevivientes con respecto al valor D.¹⁷

3. Tipo de medio de suspensión o acarreador.

El tipo de medio de suspensión o acarreador usado es una importante consideración cuando se determinan los valores D y Z dado que el acarreador puede afectar significativamente la resistencia. Cuando se validan ciclos de esterilización para una solución parenteral dada, los valores D generalmente se obtienen inoculando las esporas en la solución en cuestión. Asimismo, para permitir las comparaciones entre diferentes lotes de indicadores biológicos, los valores D generalmente se obtienen en una solución estándar de referencia (por ejemplo Buffer de Sorensen, agua destilada, etc.).

4.8.4 Metodología de laboratorio para determinar el valor D.

1. Se usa una suspensión que contenga un número conocido de esporas para inocular por triplicado muestras de la solución parenteral, tiras de papel o acarreadores sólidos.
2. Son necesarios controles positivos para determinar el número de esporas en la suspensión a ser probada. El número de esporas requerido estará basado en el diseño experimental individual, pero generalmente se encuentra en el orden de 10^4 a 10^7 esporas por muestra.
3. Exponga al menos cinco muestras a la temperatura especificada por al menos tres intervalos de tiempo.
4. El número de sobrevivientes puede determinarse por cuenta de colonias o por método de fracción negativa. ¹⁷

4.8.5 Estimación del valor D por curvas de sobrevivencia.

1. Cuando se determinan los datos de sobrevivencia por las unidades formadoras de colonias se genera una curva semilogarítmica graficando el logaritmo del número de sobrevivientes contra el tiempo de calentamiento (U).

2. Se obtiene una línea recta por regresión lineal de acuerdo al siguiente modelo (esta ecuación asume una cinética de muerte microbiana de primer orden):

$$y = a + b x$$

donde:

$y = \log_{10}$ del número de sobrevivientes al tiempo x

$x =$ tiempo de exposición

$a =$ intercepto en y a tiempo 0

$b =$ pendiente de la línea

El valor D es el recíproco negativo de la pendiente.

4.8.6 Estimación del valor D por método de fracción negativa.

1. Se calientan al menos 10 muestras que contengan el mismo número de organismos para cada intervalo de tiempo.

2. Después del calentamiento las muestras se incuban en un medio adecuado a la temperatura óptima de crecimiento del microorganismo por un mínimo de 7 días. Se registra la fracción negativa de muestras al crecimiento.

3. Existen otros dos enfoques para la evaluación de los datos:

a) El método NMP, y

b) Estimado de Spearman-Kärber.

a) Método NMP (número más probable).

Cuando se emplea el método de NMP, los datos solo pueden analizarse cuando una fracción de las pruebas es negativa.

El valor D se estima de acuerdo a la fórmula:

$$D = U / \log_{10} A - \log_{10} B$$

Donde:

U = tiempo de calentamiento a la temperatura específica.

A = número inicial de organismos en cada prueba.

B = $2.303 \log_{10}(n/q)$

n = número total de replicaciones o pruebas.

q = número de replicaciones o pruebas negativas.

Se puede determinar un valor D a cada intervalo de tiempo de acuerdo a la fórmula anterior. El valor D promedio (la media aritmética de los valores D individuales a diferentes intervalos de tiempo) debe calcularse.

b) Cuando se emplea el método de Spearman-Kärber, D se calcula de acuerdo a:

$$D = 2.303 \bar{x} / (0.57722 + \ln N_0)$$

Donde:

N_0 = el número inicial de esporas en cada prueba

$$\bar{x} = \sum_{i=1}^k (t_{i+1} - t_i) (D_{i+1} - p_i)$$

t_i = tiempo de calentamiento

p_i = proporción de tubos estériles a t_i

Cuando los intervalos entre tiempos de calentamiento son iguales, se puede usar la siguiente ecuación:

$$\bar{x} = t_k + d/2 - d \sum_{i=1}^k p_i$$

d = intervalo entre tiempos de calentamiento.

t_k = el primer intervalo de tiempo que muestra pruebas negativas.

4.8.7 Determinación del valor Z.

El valor Z de un microorganismo es una medida de como cambia la resistencia al calor con cambios en la temperatura. Z se define como el número de grados centígrados necesarios para cambiar el valor D en un factor de 10. Es el valor Z el que permite la integración del efecto letal del calor conforme la temperatura cambia durante las fases de calentamiento y enfriamiento en un ciclo de esterilización. El valor Z es necesario para hacer los cálculos que permitan comparar la letalidad de esporas a diferentes temperaturas. Debe notarse que las características de la solución tales como pH, concentraciones de electrólitos o carbohidratos pueden influir los valores D y Z de los microorganismos. Los valores Z pueden determinarse como se describe a continuación:

1. Determine el valor D de un organismo a un mínimo de tres temperaturas diferentes.
2. Construya una curva de muerte térmica graficando el logaritmo del valor D contra la temperatura.
3. Dibuje una línea recta a través de los puntos graficados. El valor Z es el cambio en la temperatura para que el valor D cambie por un factor de 10 (o un cambio de 1 log). El valor Z también es igual al recíproco negativo de la pendiente.

4.8.8 Suposiciones del valor Z.

Para propósitos de cálculos de proceso involucra la resistencia de microorganismos indígenas y es apropiado asumir un $Z = 10$ °C. El valor Z debe verificarse para los indicadores biológicos cuando el indicador es usado para medir la letalidad integrada durante la validación de un ciclo de esterilización en autoclave de producción. Pueden ocurrir discrepancias entre los valores F_0 determinados por los termopares (en donde se asume un $Z = 10$ °C) y los valores F determinados con indicadores biológicos cuando el valor Z de los indicadores varía significativamente de 10 °C.

4.8.9 Uso de los datos de biocarga, valores D y Z para calcular la probabilidad de sobrevivencia y el valor F mínimo requerido para la esterilización.

Cuando se hacen cálculos de procesos, el valor usado para representar la biocarga generalmente es el máximo número de microorganismos (cuenta total por contenedor) encontrados en un producto dado. Sin embargo, este es un enfoque conservador ya que la población entera no puede ser de organismos esporulados. Cuando se enfrentan los efectos adversos de una exposición excesiva al calor, puede ser aceptable considerar la biocarga como el número máximo de bacterias formadoras de esporas en un contenedor de producto. Los valores D usados en los cálculos del proceso generalmente son aquellos obtenidos a partir de los microorganismos aislados del producto que son más resistentes. Este

también es un enfoque conservador, por que considera que toda la población consiste de microorganismo más resistente al calor.

El número y resistencia de los microorganismos nativos se requiere para determinar el nivel de seguridad de esterilidad proporcionado por un ciclo de autoclave previamente establecido o para determinar el valor F requerido cuando se desarrolla un nuevo ciclo de esterilización

4.8.9.1 Determinación de la probabilidad de sobrevivencia.

Cuando se conoce el valor F_0 para un ciclo de esterilización la probabilidad de sobrevivencia bacteriana se calcula con ayuda de la siguiente ecuación.

$$\log_{10} B = \log_{10} A - F_0/D_{121}$$

Donde:

B = probabilidad de sobrevivencia

A = biocarga del producto.

D = tiempo a 121 °C para reducir la población de los microorganismos más resistentes encontrados en el producto o en el ambiente en un 90%

F_0 = minutos equivalentes a 121 °C (asumiendo $Z = 10$ °C)

Ejemplo:

El F_0 mínimo proporcionado por un ciclo de producción = 4 min
(determinado previamente por termopares y/o indicadores biológicos)

A = Contenedor lleno con 100 esporas (determinadas previamente por estudios de biocarga)

$D_{121} = 0.4$ minutos (la flora nativa más resistente)

$$\log_{10} B = 2 - 4/0.4 = - 8$$

$$B = 1 \times 10^{-8} \text{ Probabilidad de sobrevivencia.}$$

4.8.9.2 Determinación del valor F_0 mínimo requerido.

Cuando se determina la letalidad requerida para un nuevo ciclo de esterilización, se deben conocer la biocarga del producto, la resistencia térmica de la flora nativa y el máximo nivel aceptable de sobrevivencia bacteriana. La siguiente fórmula se emplea para establecer el valor F_0 mínimo.

$$F_0 = D_{121} (\log_{10} A - \log_{10} B)$$

Donde:

F_0 = letalidad mínima requerida; asumiendo $Z = 10$ °C.

Expresada como el número de minutos equivalentes en tiempo a 121 °C que el contenedor más frío en la carga debe ser calentado.

B = nivel máximo aceptable de probabilidad de supervivencia que usualmente es determinado por Control de Calidad.

A = Biocarga por contenedor.

Ejemplo:

$B = 1 \times 10^{-6}$ (1 unidad en 1 millón puede contener esporas sobrevivientes)

A = Contenedor con 100 esporas (según estudio de biocarga)

$D_{121} = 0.5$ minutos (establecido a partir de estudios de resistencia térmica en laboratorio).

Por lo tanto $F_0 = 0.5 (2 - (-6)) = 4.0$ minutos.

En este ejemplo se ha establecido que el contenedor más frío en el autoclave debe recibir el equivalente de 4.0 minutos a 121.1 °C.

4.8.9.3 Determinación del tiempo del proceso.

El tiempo del proceso de un ciclo de esterilización requerido para impartir el F mínimo requerido puede determinarse como sigue:

a) Establecer la ubicación del punto frío de la carga del autoclave por medio de termopares y ajustar el tiempo de esterilización tal que el punto más frío se encuentre a la temperatura del proceso durante la cantidad específica de tiempo (4.0 minutos en el ejemplo mencionado anteriormente). Esto no considera la letalidad adicional recibida por el producto durante las fases de calentamiento y enfriamiento del ciclo de esterilización.

b) Establecer el punto frío de la carga por medio de termopares y ajustar el tiempo de esterilización de tal manera que la letalidad integrada en el contenedor más frío es igual o mayor que el valor F requerido. 17

4.9 Corridas de validación con desafío microbiológico.

En la introducción de este trabajo se mencionó que existen dos formas de abordar la esterilización por vapor: el enfoque de probabilidad de sobrevivencia y el enfoque de sobremuerte. También se mencionó que la diferencia principal entre ambos es que la probabilidad de sobrevivencia se aplica a materiales termolábiles, mientras que el enfoque de sobremuerte se aplica a materiales resistentes a la temperatura. Existen otras diferencias entre ambos enfoques y estas son el tema de este apartado.

4.9.1 Enfoque de probabilidad de sobrevivencia.

4.9.1.1 Indicadores biológicos.

El propósito de usar indicadores biológicos al validar ciclos de esterilización de materiales termolábiles es medir la letalidad del proceso proporcionada por el ciclo de esterilización. En muchos casos los datos se van a usar para suplementar los datos de penetración de calor obtenidos por mediciones físicas. También pueden usarse los datos de los indicadores biológicos para apoyar los datos de penetración de calor al asegurar que la probabilidad de que un microorganismo sobreviva al proceso de esterilización es menor de 10^{-6} (Ver figura 27).

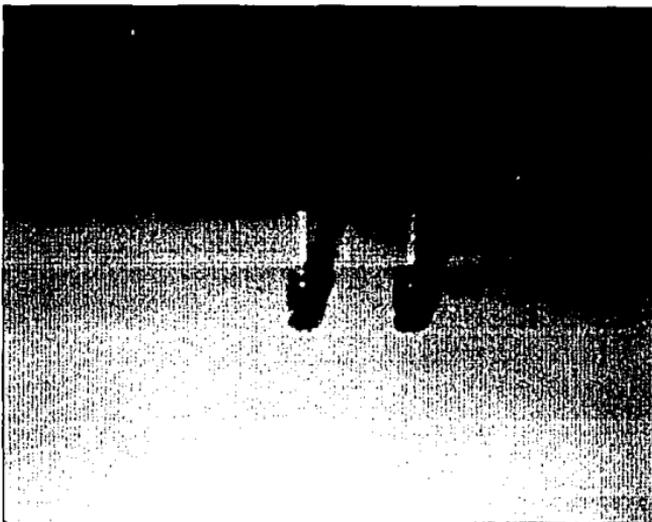


Figura No. 27 Indicadores biológicos.

El tipo y número de microorganismos usados como indicadores biológicos han sido principalmente el *C. sporogenes* y el *B. stearothermophilus*. Han sido elegidos principalmente por su relativamente alta resistencia al calor. Sin embargo, es posible emplear otras especies de microorganismos como indicadores biológicos siempre y cuando se realice la calibración de los mismos mediante los estudios de resistencia pertinentes. El número y resistencia de la población de esporas son los criterios importantes cuando se seleccionan indicadores biológicos para desafiar ciclos de esterilización por vapor.

El número de esporas usadas para monitorear un ciclo de esterilización depende de la letalidad del proceso esperada (F_0) y la resistencia del microorganismo. La relación se describe por:

$$F_0 / D_{121} = (\log A - \log B)$$

Donde:

$\log A - \log B = \log$ de reducción de esporas

1) A fin de obtener una estimación exacta del valor F_0 proporcionado por el ciclo del autoclave una proporción de la población de desafío debe sobrevivir. En segundo lugar, el método de recuperación va a influir el número de esporas requeridas como indicador biológico. El método de fracción negativa es capaz de enumerar números más pequeños de microorganismos que el método de cuenta en placa.

2) Como aproximación general, el número de esporas requerido para cada replicación puede determinarse por $N_0 = \log^{-1}(F_0/D_{121})$ cuando se emplea el

método de fracción negativa. (N_0 = número de esporas en cada replicación).

3) Si se usa el método de cuenta en placa para enumerar los sobrevivientes, la cuenta inicial requerida puede estimarse por:

$N_0 = \log^{-1}[(Fo/D12) \cdot \log B]$, donde B = número de sobrevivientes deseado para obtener una cuenta de sobrevivientes.

4) Los indicadores biológicos se diseñan para indicar si el ciclo de esterilización está proporcionando suficiente letalidad para lograr una probabilidad de 10^{-6} de sobrevivencia microbiana con respecto a la biocarga. A fin de lograr este propósito los criterios de diseño para el indicador biológico pueden derivarse por:

$$D_s (\log N_i + 6) = D_{1b} (\log N_0 + 1)$$

Donde:

N_i = La carga de microorganismos en el producto a esterilizar.

D_s = El valor D del aislado más resistente.

N_0 = Número de organismos en el indicador biológico.

D_{1b} = Valor D del indicador biológico.

El número de microorganismos a usarse en el indicador biológico puede determinarse resolviendo para N_0 .

4.9.1.2 Procedimiento de uso de indicadores biológicos.

1) Inocule el medio acarreador elegido con un volumen conocido de suspensión de esporas. El tipo de acarreador puede depender del material que se va a esterilizar. En el caso de soluciones, las esporas deben suspenderse en contenedores de prueba que sean del mismo diseño y llenos al mismo volumen que el producto que representan. El medio de suspensión debe ser la solución parenteral que se esté validando. En el caso de dispositivos o materiales sólidos, las esporas pueden inocularse sobre muestras del mismo material en lugar de aplicarse sobre todo el material.

2) Se deben correr controles positivos para verificar que la cuenta inicial es correcta.

3) Los estudios de desafío deben realizarse durante los estudios de penetración de calor. Coloque un mínimo de 10 contenedores con indicadores biológicos a través de la carga en el autoclave, asegurándose que el punto frío de la carga quede incluido.

4) El patrón de carga debe ser el mismo que se ha especificado para el uso normal.

5) Inicie el ciclo de esterilización especificado.

6) Después del ciclo de esterilización, recupere los indicadores biológicos y al menos un indicador control negativo.

7) Cada contenedor de prueba debe filtrarse por membrana 0.45 micrómetros en un ambiente adecuadamente controlado. Las membranas deben colocarse en el medio apropiado (agar o caldo) e incubarse a temperatura óptima de crecimiento por al menos 72 horas. Trate los controles negativos en la misma forma que las muestras tratadas.

8) Enumere las colonias en caso de cuenta en placa. Si se emplea el método de fracción negativa registre la proporción de cultivos que muestren resultados positivos o negativos.

Evaluación de resultados.

1) La letalidad del proceso del ciclo del autoclave como puede medirse por el uso de indicadores biológicos se determina por la siguiente ecuación:

$$F_t^z = D_t^z (\log A - \log B)$$

Donde:

D_t^z = valor D del indicador biológico previamente determinado.

A = número de esporas de desafío por contenedor.

B = número de organismos de desafío que sobreviven por contenedor. Cuando se colectan datos de fracción negativa, $B = 2.303 \log(n/q)$ donde n es el número total de replicaciones negativas.

2) Ejemplo utilizando resultados de fracción negativa. Supongamos:

$$D_t^1 = 1 \text{ minuto } (Z = 10 \text{ } ^\circ\text{C})$$

$$A = 1 \times 10^4 \text{ esporas / contenedor.}$$

$$B = 20 \text{ replicaciones/10 replicados negativos.}$$

Entonces:

$$B = 2.303 (\log 20/10) = 0.69 \text{ esporas/contenedor.}$$

$$F_0 = 1(4 - (-0.159)) = 4.2 \text{ minutos.}$$

En el caso de que todas las replicaciones estén estériles, se puede estimar un valor F mínimo asumiendo una replicación positiva. Por ejemplo, si se usan 10 replicaciones y todas son negativas, se puede estimar un F mínimo como sigue (suponga $D = 1.5$ minutos; $A = 10^4$ esporas por contenedor y $B = 10$ replicaciones/9 negativos).

$$B = 2.303 \log 10/9 = 0.1054$$

$$\log B = -0.98$$

Entonces:

$$F_0 = 1.5 (4 - (-0.98)) = \text{más de 7.5 minutos}$$

3) Ejemplo usando resultados de cuenta de sobrevivientes. Suponga:

$$D = 1 \text{ minuto (} Z = 10 \text{ }^\circ\text{C)}$$

$$A = 1 \times 10^6 \text{ esporas/contenedor.}$$

$$B = 1 \times 10^2 \text{ esporas/contenedor.}$$

Entonces:

$$F_0 = 1 (6 - 2) = 4.0 \text{ minutos.} \quad 17$$

4.10 Tratamiento de valores teóricos.

La información que se obtiene del trabajo de validación debe incluir los siguientes aspectos.

4.10.1 Especificaciones:

A. Calibración inicial de termopares. No deba haber temperaturas con diferencia mayor de 0.5°C respecto al RTD en el termopar de referencia. No deberán haber diferencias mayores a 0.5°C respecto al termopar de referencia en los termopares de trabajo. En caso de que se encuentre una desviación mayor se corregirá la anomalía o se cambiará el termopar en cuestión.

En ningún caso se podrán emplear menos de 10 termopares por estudio.

B. Distribución de calor en cámara vacía. Ninguna temperatura deberá tener una variación mayor a $\pm 2.5^{\circ}\text{C}$ respecto a la temperatura promedio en la cámara.

C. Distribución de calor cámara con carga. Ninguna temperatura deberá tener una variación mayor a $\pm 2.5^{\circ}\text{C}$ respecto a la temperatura promedio en la cámara. En caso de exceder este límite se deberá modificar la distribución de la carga dentro de la cámara a fin de facilitar la distribución del calor.

D. Penetración de calor. A partir de los datos de biocarga y de resistencia térmica del microorganismo más resistente calcule el valor

F_0 mínimo requerido y calcule el valor F_0 mínimo en el punto más frío de la carga, el cual debe ser mayor al valor F_0 mínimo requerido.

E. Desafío microbiológico. Ninguno de los indicadores biológicos tratados deberá mostrar desarrollo después de 48 horas de incubación a 55 °C y adicionalmente el indicador biológico que se use como control positivo deberá mostrar un crecimiento claro y bien definido después de una incubación similar.

F. Calibración posterior de termopares. Ninguno de los termopares deberá mostrar diferencias mayores a 0.5 °C cuando se realice la calibración a 121 °C. En caso contrario se invalidarán los resultados que hubiera generado el termopar en cuestión, manteniéndose la condición de un mínimo de 10 termopares.

4.10.2 Tratamiento estadístico de valores teóricos. (análisis de variancia por bloques completos al azar).

Tabla No. XI

Calificación de operación (termómetro del autoclave)

Tiempo	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	$y_{i.}$	y^2_{ij}
min.	°C				
15	121	121	121	363	43923
18	121	121	122	364	44166
21	122	122	121	365	44409
24	122	121	122	365	44409
27	121	122	121	364	44166
30	122	122	122	366	44652
33	122	121	121	364	44166
36	121	121	122	364	44166
39	122	122	121	365	44409
42	122	122	122	366	44652
45	122	122	121	365	44409
$y_{.j}$	1338	1337	1336	4011	
$y^2_{.j}$	162752	162509	162266		487527

Análisis de variancia.

Fuente de variación	gl	SC	CM	F
Bloques	2	0.1818	0.0909	0.3529
Tratamientos	10	2.8485	0.2848	1.1058
Error	20	5.1515	0.2576	
Total	32	8.1818		

$$F_{(10,20;0.005)} = 2.35$$

Decisión: No existe evidencia estadísticamente significativa de que las temperaturas obtenidas durante la calificación de operación en el período de exposición sean diferentes (los ciclos transcurrieron homogéneamente).

Tabla No.XII

Análisis de variancia de los datos de estudio de distribución de calor en cámara vacía.

TP	Ciclo 1 °C	Ciclo 2 °C	ciclo 3 °C	$y_{i.}$	y^2_{ij}
1	122.11	121.51	121.77	365.39	44503.4651
2	122.21	121.76	121.80	365.77	44596.0217
3	122.30	121.92	121.85	366.07	44669.1989
4	122.19	122.09	121.97	366.25	44713.0451
5	122.19	122.21	122.06	366.46	44764.3238
6	122.33	122.31	122.17	366.81	44849.8739
7	122.29	122.40	122.32	367.01	44898.7865
8	122.29	122.33	122.26	366.88	44866.9806
9	122.39	122.25	122.17	366.81	44849.8835
10	122.19	122.17	122.14	366.5	44774.0846
11	122.40	122.07	122.06	366.53	44781.4885
12	122.31	121.98	121.99	366.28	44720.4166
$y_{.j}$	1467.2	1465	1464.56	4396.76	
y^2_{ij}	179389.7398	178852.818	178745.011		536987.5688

Análisis de variancia.

Fuente de variación.	gl	SC	CM	F
Bloques	2	0.33344	0.16672	11.39
Tratamientos	11	0.84397	0.07673	5.24
Error	22	0.32203	0.01464	
Total	35	1.49944		

$$F_t(11,22;0.05) = 2.30$$

Decisión: Existe evidencia estadísticamente significativa de que las temperaturas medias obtenidas en cada termopar en las corridas son diferentes.

Hay diferencias reales entre las medias de los tratamientos.

Esto demuestra que hay puntos con diferentes temperaturas en un mismo ciclo y que en un mismo punto del autoclave hay diferentes temperaturas en los tres ciclos.

Pero como las temperaturas son mayores a la de esterilización, la carga sí se esta esterilizando.

4.10.3 Emisión del reporte de validación.

El reporte debe incluir lo siguiente:

1. Reporte de calificación del autoclave.
2. Procedimiento de operación del autoclave.
3. Certificado de calibración, vigente, del microprocesador y anexos.
4. Protocolo de validación del proceso de esterilización por vapor.
5. Calibración previa de los termopares.
6. Hoja de reporte del ciclo de distribución de calor con cámara vacía.
7. Hoja de reporte del ciclo de distribución de calor con cámara con carga.
8. Hojas de reporte de los ciclos de penetración de calor con carga.
9. Certificado de los indicadores biológicos.
10. Reporte de Control de Calidad sobre la incubación de indicadores biológicos.
11. Reporte del F_0 en punto frío y caliente en ciclos de penetración de calor en cámara con carga.
12. Registros gráficos del microprocesador de datos para todos los estudios.
13. Calibración final de los termopares.
14. Análisis de variancia para establecer reproducibilidad del ciclo.
15. Observaciones.
16. Conclusiones.

4.10.4 Condiciones para la revalidación.

Se deben ejercer controles adecuados para asegurar que el equipo y proceso no han cambiado inadvertidamente, que el proceso se desempeña apropiadamente, y que el producto está consistentemente sujeto al F_0 deseado durante cada ciclo rutinario. Esto se logra comunmente por las siguientes medidas.

1. No deben modificarse el equipo, el proceso o los procedimientos operativos sin previa evaluación y pruebas indicadas para asegurar que el proceso permanece bajo control.
2. Los registros rutinarios del proceso son revisados para asegurar que cada carga ha sido sometida al proceso especificado.
3. Se realiza convencionalmente la prueba de esterilidad al producto terminado, aunque la industria reconoce que los planes de muestreo son, en esencia, inadecuados para detectar bajos niveles de no esterilidad.
4. Se puede usar un monitoreo rutinario de la temperatura de la carga con un sensor de temperatura dentro de una unidad del producto para medir el F_0 proporcionado en sitios seleccionados en la carga.
5. Se debe monitorear rutinariamente la biocarga del producto cuando la validación del proceso se base en la biocarga y no en el enfoque de sobremuerte.

Revalidación

Periódicamente, se deberán recalibrar los instrumentos del autoclave para asegurar medidas continuamente exactas. Además, el sistema del autoclave debe estar sometido a pruebas de calificación de desempeño limitadas para verificar que el proceso permanece adecuadamente controlado. 26

Debe planearse una calificación sencilla a efectuarse periódicamente para verificar de manera continua la ausencia de cambios indeseables que pudieran pasar inadvertidos.

El lapso de tiempo entre revalidaciones debe justificarse en base a las características del proceso de manufactura.

Para ello debe efectuarse la recalificación del equipo y del proceso a los intervalos de tiempo fijados, aplicando tanto los métodos de ingeniería como los microbiológicos.

Las recalificaciones periódicas deben completarse mediante el análisis de la confiabilidad del proceso basado en los datos obtenidos durante la actividad rutinaria de producción.

También debe planearse una calificación sencilla siempre que se realice una modificación en el equipo para demostrar que el proceso de esterilización no ha sido alterado.

Las modificaciones del equipo que tienen un efecto significativo en el proceso de esterilización o en la funcionalidad del producto requerirán estudios de calificación adicionales.

Cambios o sustituciones en el equipo por mantenimiento empleando partes iguales o equivalentes no ameritan recalificación, excepto si se refiere a componentes electrónicos o de control. En este último caso también puede abolirse la recalificación, si se demuestra la ausencia de efectos significativos.

Después de una recalificación, también deberá efectuarse una recertificación. 39

5.0 CONCLUSIONES.

1.- La validación de procesos es necesaria ya que la industria farmacéutica mexicana tiene que producir con más calidad y eficiencia, para poder competir en el TLC.

2.- La finalidad de la validación de procesos de esterilización por vapor es la de tener un conocimiento más profundo y un mejor control del proceso de esterilización.

3.- La validación debe comenzar con la redacción de un protocolo de validación en el que se plasmen la finalidad, alcances, limitaciones, forma de realización, criterios de evaluación y apoyos necesarios (metrología, microbiología, estadística, computación, etc.).

4.- El conocimiento del proceso que sigue el producto, de la flora microbiana que comunmente se encuentra en el producto, del enfoque utilizado y de las capacidades del equipo darán la pauta para fijar las condiciones del proceso que aseguren la esterilidad.

5.- Para ayudarnos a realizar el trabajo de validación debemos contemplar la realización de los siguientes estudios: calibración de instrumentos de medición, calificación de instalación y operación del autoclave, distribución de calor en cámara con y sin carga, penetración del calor en la carga, así como los estudios con desafío microbiológico que demuestren que las condiciones establecidas del proceso, así como el equipo son adecuados y suficientes. Cada estudio de los anteriormente mencionados aporta información, por lo que no se puede

decidir arbitrariamente eliminar o posponer la realización de alguno de ellos.

6.- Cuando dichos estudios se han realizado bajo la metodología y con la escrupulosidad necesarias, se han documentado este conjunto de evidencias en un reporte y se han obtenido resultados satisfactorios se esta en posibilidad de afirmar que nuestro proceso es eficiente, reproducible y que nuestros productos son confiables, y adecuados, para ser administrados a un paciente.

7.- En esta guía se ha propuesto la metodología y resumido los conceptos de la validación del proceso de esterilización por vapor.

6.0 BIBLIOGRAFIA.

- 1.- Kieffer, Robert G, "Why Validation?", "Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes", Edit. Carleton, Frederick J., Marcel Dekker INC., Nueva York, capítulo 1, (1986).
- 2.- Chapman, Kenneth G., "A History of validation in the United States Part I," Pharm. Tech., 15 (10): 62,82,96 (1991).
- 3.- Ley General de Salud, Art.3 Fracción 1 y Art.214, México 1991.
- 4.- Comité de elaboración de Guías Oficiales de Validación, "Guía de Validación de Proveedores", Secretaría de Salud, México, 1990.
- 5.- Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación, "Guía de Validación de métodos analíticos", Secretaría de Salud, México, 1991.
- 6.- Comité de Elaboración de Guías Oficiales de Validación, "Guía de Validación de medios de cultivo", Secretaría de Salud, México, 1990.
- 7.- Leahy Timothy J., "Microbiology of Sterilization Presses", Por Carleton Frederick J., Marcel Dekker Inc., Nueva York," Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes", 253-254, (1984).
- 8.- Chapman Kenneth G., " Validation terminology" Por Loftus, Bernard T., Marcel Dekker Inc., Nueva York, Pharmaceutical Process Validation, 268-271, 1984.

9.- Jeater J. Patrick, "Organizing for Validation" For Loftus, Bernard T., Marcel Dekker Inc., Nueva York," Pharmaceutical Process Validation", 17 (1984).

10.- P:M:A: Validation advisory Committee, "Process Validation Concepts for Drug Products", Pharm. Tech. 9 (9):78,82, (1985).

11.- Kaye Instruments Inc., "Temperature Calibrations Standards thermocouple wire and probes", Bedford, MA,: 1-9 (1988).

12.- Kaye Instruments Inc., "Digistrip III User's Guide" Bedford, MA, 1988.

13.- Instrucciones para el uso del bioindicador Sterikon para el control de autoclaves, Merck México. (1).

14.- Center for Drugs and Biologics FDA, "Guideline on General Principles of Process Validation", Rockville, Maryland :4,17,30 (1987).

15.- Fry, E. M. "General Principles of Process Validation", Pharm. Engin. 4 (3): 33-36 (1984).

16.- United States Pharmacopeia XXII, Mack Publishing, P.A.:1705-1706 (1990).

17.- Parenteral Drug Association, "Validation of Stream Sterilization Cycles, Technical Monograph No. 1" Philadelphia:13-17, 19-22,30 (1978).

- 18.- McBride, R.J. "The Fo Concept" Tutorial No. 1. Parenteral Society, Edimburgh:7-8 (1985).
- 19.- Stumbo, C.R. "Thermobacteriology in Food Processing", Segunda Edición, Academic Press Inc., Orlando Florida: 70,90-91 (1973).
- 20.- Rahn O. "Physical methods of sterilization of microorganisms". Bacteriol. Rev. (9):1 (1945).
21. Yoshikawa, H. "Chromosomes in Bacillus subtilis and their segregation during germination" J. Bacteriol., 95:2282 (1968).
- 22.- Wax, R.G. Ph.D. Thesis, Pennsylvania State University U.S.A. (1963).
- 23.- Waaler, Per J. "A chemical method for the control of autoclavation" Part II. Eur. J. Pharm. Biopharm. 17 (2):94-100 (1991).
- 24.- Nash, A. Robert, "A Method For Calculating Thermal Sterilization Conditions Based Upon Process Parametrics," J. Parent. Sci. Technol., 12 (6): 251-255 (1985).
- 25.- Committee on Microbial Purity "Sterility Assurance Based on Validation of the Sterilization Process Using Setam under Pressure", J. Parent. Sci. Technol. 41 (5):226-230 (1989).

- 26.- Swarbrick, James y Boylan, C. James "Enciclopedia of Pharmaceutical Thecnology" Vol I. Marcel Dekker Inc., Nueva York 399-412 (1991).
- 27.- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial NOM-Z-55, México, 1986. "Metrología. Vocabulario de términos fundamentales y generales" (31-32).
- 28.- Secretaría de Comercio y Fomento Industrial "Memorias del Curso Básico de Dureza", México: II-7 y II-8 (1991).
- 29.- Olvera Arana Pablo "Procedimiento para calibración de Manómetros de Bourdon" Metrología 2(6): 19-26 (1990).
- 30.- Laboratorios Lakeside México, "Procedimiento de calibración y ajuste de manómetros tipo Bourdon" (5).
- 31.- Kemper, Clarence A. "Design, Installation and Calibration of thermocouple measuring systems" Por Carleton, Frederick J. Marcel Dekker Inc. Nueva York 1986 "Validation of Aseptic Pharmaceutical Processes" 120,(1986).
- 32.- Laboratorios Organon Mexicana "Protocolo de validación de autoclaves de vapor", México: 4-6 (1988).
- 33.- Janford, Bolton "Pharmaceutical Stadistics" Marcel Dekker Inc. Nueva York, 1984.

- 34.- Steel, Robert G. & Torrié, James H. "Bioestadística" Segunda edición McGraw-Hill, México: 132-141 (1985).
- 35.- Comité de elaboración de Guías Oficiales de Validación "Áreas asépticas, hornos y autoclaves" Secretaría de Salud, México: 17 (1990).
- 36.- Laboratorio Aplicaciones Farmacéuticas "Protocolo de Validación de autoclaves de vapor" 1991.
- 37.- Laboratorios Helber de México "Protocolo de Validación de Procesos de Esterilización en el Autoclava de Vapor" 1991.
- 38.- Kaye Instruments Inc. "Validation Program for Digistrip 4 and 4 Plus Systems" Bedford, MA. 1989.
- 39.- Couriel Benito D. "Validación de Procesos Farmacéuticos" Asociación Farmacéutica Mexicana A.C. México: 48-49 (1982).

Anexo.

A continuación se presenta una lista de artículos para complementar este trabajo.

- 1.- Agalloco J., "The Validation Life Cycle", J. Parent. Sci. & Technol., 47 (3): 142-146 (1993).
- 2.- Agalloco J., "Current Practices in the Validation of Aseptic Processing", J. Parent. Sci. & Technol., 47 (supplement), 1993 (1-21).
- 3.- Committee on Microbial Purity, "Validation and Control of Non-Standard Sterilization processes", J. Parent. Sci. & Technol. 47(1): 9-14 (1993).
- 4.- Maynard W.D., "Validation Master Planing" J. Parent. Sci. & Technol. 47 (2): 84-88 (1993).
- 5.- Nally J. and Kieffer R., "The future of validation: from QC/QA to TQ". Pharm. Tech.: 106-116: (1993).
- 6.- Lingnau J., "Standard Versus non-standard sterilization Processes", Pharm.-Ind., 53 (8): 771-775 (1991).
- 7.- LE Hir A., "Example of a Steam Sterilization Procedure Validation Study", STP-Pharma; 2 (suplemento): 859-861 (1986).
- 8.- Myers R. B., "Practical System for Validating Heat sterilization Processes", J. Parent. Drug Assoc.(32): 216-225 (1978).
- 9.-Lencion. E., "Steam Sterilization", Boll-Chem. Farm; 116 (10): 572-583 (1977).
- 10.- Kirk B. "Evaluation of a prototype micro-electronic autoclave cycle", J. Pharm. Pharmacol; 33 (2): 69-74 (1981).
- 11.- Scruton M.W., "The effect of air on the moist-heat resistance of Bacillus Stearothermophilus Spores". J. Hosp. Infect; 14 (4): 339-350 (1989).

12.- Scruton M.W., "The effect of air with steam on the temperature of autoclave contents", J. Hosp. Infect; 14 (3): 249-262 (1989).