

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

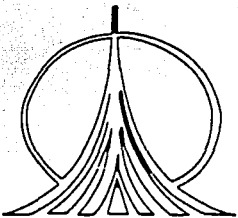
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
ZARAGOZA

Calificación de un túnel (Validación del proceso de
despirogenización de ampollas de 1, 2 y 3 mL)

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A :
HERNANDEZ ARROYO SANDRO ALBERTO

Director: Q F B . Ma. Angélica Pérez Mora.

Asesor: Q F B . Margarito Morales Borboa.



MEXICO, D.F

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

2002



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



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 esta 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.

Con especial agradecimiento a todas las personas que colaboraron directa e indirectamente en la realización de este trabajo, a mi director y asesor:

Q.F.B Ma. Angélica Pérez Mora

Q.F.B Margarito Morales Borboa

Dedicada a mis padres, hermanos, esposa y amigos.

Por su paciencia y estímulo.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

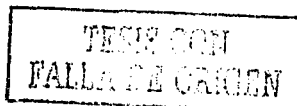
**CALIFICACIÓN DE UN TÚNEL (VALIDACIÓN DEL PROCESO DE
DESPIROGENIZACIÓN DE AMPOLLETAS DE 1, 2 y 3 mL)**

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

	Página
INTRODUCCIÓN	5
1. FUNDAMENTO DEL TEMA	7
1.1 BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACION (BPF)	7
1.2 VALIDACION	8
1.2.1 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN	9
1.2.2 VALIDACION DE PROCESOS	10
1.3 VALIDACIÓN DE PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN Y DESPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO	12
1.3.1 Valor F	17
1.3.2 Valor D	19
1.3.3 Valor Z	20
1.4 MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE CALOR PARA PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN/DESPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO	20
1.4.1 PROCESOS DE CALENTAMIENTO POR CONVECCIÓN	20
1.4.2 PROCESOS DE CALENTAMIENTO POR CONDUCCIÓN	21
1.4.3 PROCESOS DE CALENTAMIENTO POR RADIACIÓN	22
1.5 EVALUACIÓN DE LA ESTERILIDAD	23
1.6 EVALUACIÓN DE LA DESPIROGENIZACIÓN	24
1.6.1 EL LAL TEST (Limulus Amebocyte Lysate)	26
1.7 TÚNEL DE ESTERILIZACIÓN Y DESPIROGENIZACIÓN	29
1.7.1 DESCRIPCIÓN DEL TÚNEL A CALIFICAR	29
2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	35
3. OBJETIVOS	37
4. HIPÓTESIS DE TRABAJO	38

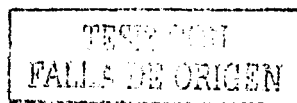
**TESIS CON
FALLA DE ORIGEN**

5. MATERIALES Y MÉTODOS	39
5.1 INSTRUMENTACIÓN	39
5.2 MATERIAL	39
5.3 REACTIVOS	40
6. METODOLOGÍA	41
6.1 DIAGRAMA DE FLUJO	41
6.2 CALIFICACIÓN DEL TÚNEL	42
6.3 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN	44
6.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN	48
6.5 CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN	51
6.6 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN	65
6.7 CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO	66
6.8 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO	71
7. RESULTADOS	72
7.1 RESULTADOS CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN	72
7.2 RESULTADOS CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN	75
7.3 RESULTADOS CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO	86
8. ANÁLISIS DE RESULTADOS	108
9. CONCLUSIONES	118
10. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES	119
11. BIBLIOGRAFÍA	120
12. REFERENCIAS	121



INDICE DE ABREVIATURAS

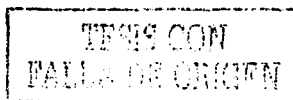
BPF	Buenas Prácticas de Fabricación
CENAM	Centro Nacional de Metrología
CFR	Code of Federal Regulation
DOP	Di-Octil-Ftalato
FDA	Food and Drug Administration
FED STD	Federal Standard 209E
IQ	Calificación de Instalación
LAL	Limulus Amebocyte Lysate
LPS	Lipopolisacaridos
NIST	National Institute of Standards and Technology
NOM-059	Norma Oficial Mexicana 059
OMS	Organización Mundial de la Salud
OQ	Calificación de operación
PAO	Poly Alfa Olefina
PNO	Procedimiento Normalizado de Operación
PQ	Calificación de desempeño
UE	Unidades de Endotoxina
USP	Farmacopea de los Estados Unidos Americanos
FEUM	Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos



INTRODUCCIÓN

El objetivo de la manufactura de formas farmacéuticas parenterales es la obtención de un producto estéril. El énfasis de la esterilización para productos parenterales está claramente definido, ya que formas farmacéuticas inyectables contaminadas con microorganismos o sus bioproductos (endotoxinas) violan los requerimientos de seguridad del producto como tal, aumentando la posibilidad de causar un daño durante la terapia.

Para lograr la obtención de un producto estéril, es necesario asegurar que el proceso de esterilización/despirogenización, sea consistente y confiable. Al respecto, las regulaciones nacionales e internacionales exigen asegurar la calidad en la manufactura de medicamentos; por ejemplo, la NOM-059 establece: "los requisitos mínimos necesarios para el proceso de medicamentos y/o productos biológicos comercializados en el país"; así mismo establece en el punto 9.5.3.5: "Los procesos de esterilización deben estar validados" y en el punto 9.5.3.11: "El equipo, los sistemas de aire, agua y esterilización, deben ser objeto de mantenimiento y calificación de manera periódica y documentada". De la misma manera, el CFR "Code of Federal Regulations" parte 211.113(b) indica: "Se deben establecer y seguir procedimientos adecuados para prevenir contaminación microbiológica en las formas farmacéuticas estériles, tales procedimientos deben incluir la validación de los procesos de esterilización".¹⁻⁴



El presente trabajo, define los aspectos teóricos y experimentales para lograr la validación de los procesos de esterilización/despirogenización por calor seco, considerando la calificación del túnel, la validación en términos microbiológicos y termodinámicos de los procesos de despirogenización utilizados en la manufactura de ampollas en los laboratorios farmacéuticos Merck México S.A.

1. FUNDAMENTO DEL TEMA

1.1 BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACION (BPF)

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define las buenas prácticas de fabricación (BPF) como el "área de garantía de la calidad la cual asegura que los productos se fabriquen en forma uniforme y controlada, de acuerdo con las normas de calidad adecuadas al uso que se pretende dar a los productos, y conforme a las condiciones exigidas para su comercialización". Las BPF abarca todos los aspectos del proceso de fabricación locales, de almacenamiento y transporte adecuados, personal calificado y capacitado para la producción y control de la calidad, instalaciones apropiadas, procedimientos escritos y aprobados, bitácoras de actividades, posibilidad de seguir un producto en todas sus etapas mediante registros en proceso y distribución; sistemas para el retiro de un producto y la investigación de quejas.⁵

El principio básico de las BPF es que la calidad forma parte integral de la elaboración del producto, y no es algo que meramente se somete a prueba en el producto. Por consiguiente, con esto asegura que el producto no sólo cumple con las especificaciones finales, sino que se ha fabricado con los mismos procedimientos y en las mismas condiciones cada vez que se elabora. Hay muchas formas de lograr

esto, la validación es la parte de las BPF por la cual se establece que los sistemas, los equipos, los procesos y los procedimientos para las actividades del establecimiento estén bajo control y por consiguiente, se produzca uniformemente un producto de calidad.⁵

1.2 VALIDACION

La validación se define como el establecimiento de pruebas documentales que aportan un alto grado de seguridad de que un proceso planificado se efectuará uniformemente en conformidad con los resultados previstos especificados⁶. Los estudios de validación son aplicables a los métodos analíticos, los equipos, los sistemas, los servicios (aire, agua, y vapor) y procesos (fabricación, limpieza, esterilización, llenado aséptico, liofilización, etc.).⁵

Es preciso demostrar que cada paso del proceso de fabricación de un medicamento se efectúa según lo previsto. Los estudios de validación verifican el sistema en estudio y en condiciones de prueba extremas semejantes a las que cabría esperar durante el proceso, a fin de demostrar que dicho sistema está bajo control. Una vez que el sistema o proceso se ha validado, este debe permanecer bajo control, siempre y cuando no se hagan cambios en el mismo. Si se producen modificaciones o surgen problemas, o si un equipo se sustituye o cambia de ubicación, habrá que efectuar una revalidación. Los equipos y procesos de importancia crítica se revalidan

de manera sistemática en intervalos adecuados de tiempo a fin de demostrar que el proceso sigue bajo control.⁵

1.2.1 PROTOCOLO DE VALIDACIÓN.

Un protocolo de validación describe los detalles de un estudio integral planificado para investigar el funcionamiento uniforme de un nuevo sistema/equipo, un nuevo procedimiento o la aceptabilidad de un nuevo proceso antes de ejecutarlo. Los protocolos incluyen antecedentes importantes, explican el fundamento lógico y el objetivo del estudio, ofrecen una descripción completa de los procedimientos que habrán de seguirse, fijan los parámetros que habrán de medirse, describen como se analizarán los resultados y definen los criterios de aceptación determinados con anterioridad⁵⁻⁶.

Los estudios de validación, los estudios de estabilidad y los estudios clínicos son ejemplos de protocolos escritos para la industria farmacéutica. Los protocolos de validación son importantes para asegurar que se recaben pruebas documentadas a fin de demostrar que un equipo, un sistema, un proceso o un método se desempeña uniformemente en conformidad con los parámetros.⁵

1.2.2 VALIDACION DE PROCESOS.

La FDA define "validación de procesos" como el establecimiento de la evidencia documentada, la cual provee un alto grado de seguridad de que un proceso específico producirá consistentemente un producto que reúna todas sus especificaciones y características de calidad predeterminadas⁶.

Se entiende por proceso una serie de funciones y actividades mutuamente relacionadas en las que intervienen diversas acciones y equipos determinados, que está diseñado para producir un resultado definido. Para validar la reproducibilidad y consistencia de un proceso, el proceso se lleva a cabo utilizando equipos calificados, en conformidad con el procedimiento establecido. El proceso tendrá que satisfacer todos los criterios de aceptación previamente establecidos para considerarse un proceso validado. En muchos casos se aplican los denominados "peor de los casos" en la validación a fin de demostrar que el proceso será aceptable en condiciones extremas.^{1,5}

He aquí algunos ejemplos de procesos que deben validarse en la fabricación de productos farmacéuticos:

Limpieza

Desinfección

Despirogenización

Esterilización

Llenado Aséptico

Fermentación

Producción a granel

Llenado, taponado y sellado

Liofilización

Los estudios de validación de un proceso examinan éste en condiciones normales de operación, a fin de comprobar que está bajo control. Es frecuente que los estudios de validación exijan hacer más mediciones de las que son necesarias para el proceso ordinario. En validación se debe comprobar la uniformidad del proceso y, por consiguiente, hay que evaluar la eficiencia y la eficacia de cada etapa para producir el resultado previsto.^{1,5}

1.3 VALIDACIÓN DE PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN Y DESPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO

El calor seco es a menudo un agente seleccionado para la esterilización de materiales que pueden tolerar altas temperaturas, o cuando otros métodos, como la penetración de calor húmedo (por vapor) puede causar daños sobre los mismos. El calor seco se utiliza convencionalmente para esterilizar polvos, aceites, vidrio y materiales de acero inoxidable. Los procesos de esterilización por calor seco generalmente son menos complicados que los procesos con calor húmedo, éstos requieren de un mayor tiempo de exposición, así como de temperaturas más elevadas, ya que la letalidad asociada al calor seco es menor que la obtenida por vapor saturado. Sin embargo, muchos de los conceptos y métodos desarrollados para la esterilización por calor húmedo pueden adaptarse a la esterilización por calor seco. ^{1,4,7}

La validación de procesos de esterilización y despirogenización por calor seco se realiza en forma secuencial, básicamente calificando el equipo (por ejemplo, túnel u horno), una vez que se tiene la evidencia de la calificación del equipo se procede a validar el proceso de esterilización y despirogenización para el o los patrones de carga específicos. ^{1,7}

A continuación se mencionan algunas de las actividades a seguir y la fase de la calificación en que debe realizarse:

- Verificación de la instalación del equipo. (Calificación de instalación IQ)
- Calibración de los sensores críticos, monitoreo y control del equipo. (Calificación de instalación IQ)
- Verificación de funciones y alarmas del equipo. (Calificación de operación OQ)
- Verificación de las características termodinámicas del equipo. (Calificación de operación OQ).
- Reto microbiológico del proceso. (Calificación de desempeño PQ)
- Estudios de penetración de calor.
- Revisión de los resultados de las pruebas.
- Certificación final del paquete de documentación.

En algunos casos, los procesos por calor seco tienen solo como objetivo proveer un método de esterilización, mientras que en algunos otros casos el objetivo es esterilizar y despirogenizar la carga deseada.

Para aquellos casos donde el proceso por calor seco está diseñado sólo para esterilización, los parámetros del proceso están basados en las características de la

biocarga, así como en la resistencia térmica de la misma. Los Procesos de esterilización se diseñan de tal manera que se asegure que la probabilidad de supervivencia de la concentración inicial del microorganismo no sea mayor a una célula por millón de unidades, es decir, se debe asegurar que la probabilidad de no-esterilidad sea menor a 10^{-6} . Para demostrar lo anterior, se emplean indicadores microbiológicos con alta resistencia térmica.^{1,4,7}

Para aquellos casos donde el proceso por calor seco está diseñado para esterilización y despirogenización, los procesos están basados en la capacidad de inactivación de endotoxinas. Se sabe que los pirógenos pueden destruirse por calor seco; consecuentemente, la industria farmacéutica emplea tradicionalmente el calor seco como medio de despirogenización en materiales de vidrio, acero inoxidable y en otros materiales estables al calor seco. Algunos procesos utilizan normalmente temperaturas elevadas, por ejemplo la despirogenización de ampollitas utiliza temperaturas superiores a los 300 °C, mientras que algunos procesos por lote utilizan temperaturas de 200°C.^{1,4,7}

En los ciclos de esterilización y despirogenización utilizados en estos procesos, los parámetros deben ajustarse de manera que se asegure que el punto más frío en la carga reciba la cantidad de calor necesaria para asegurar la despirogenización. La letalidad obtenida mediante estos ciclos debe proveer un margen amplio de seguridad que garantice la esterilidad, utilizando microorganismos resistentes como

esporas de *Bacillus subtilis*, las cuales tienen valores de **D** (más adelante se define el significado del valor **D**) de pocos segundos a las temperaturas de despirogenización convencionales⁽¹⁰⁾. De esta manera, se anticipa que la reducción microbiológica excederá al orden de 10^{100} , y la eficiencia puede cuantificarse por la inactivación de endotoxinas, de manera que el reto biológico del proceso de despirogenización queda sujeto a someter cantidades conocidas de endotoxina al ciclo de despirogenización y evaluar la eliminación de las mismas.

Para establecer el tiempo necesario para la inactivación de las endotoxinas en los materiales sometidos al calor seco, deberán realizarse los siguientes estudios: ^{1,9-10}

- a. Adecuabilidad de la cámara para proveer un medio de distribución homogénea del calor.
 - b. Localizar el punto más frío dentro de la cámara con carga (penetración de calor).
 - c. Concentración mínima de endotoxinas que puede ser inactivada por el ciclo.
 - d. Reproducibilidad del ciclo para asegurar que la concentración mínima de endotoxinas que es inactivada por el ciclo es consistente en el punto más frío dentro de la cámara con carga.
-

Para los procesos de esterilización por calor seco, la USP 24 especifica que los ciclos de esterilización deben realizarse a una temperatura de 170 °C por 2 horas como mínimo. Para procesos de despirogenización, la misma recomienda 250 °C por no menos de 30 minutos.⁹

Los tres factores principales en los procesos de esterilización, que juegan un papel importante en el proceso son:⁷⁻¹⁰

- a. Temperatura de exposición
- b. Tiempo de exposición
- c. Resistencia del microorganismo

Para evaluar el efecto de estas variables dentro de un sistema que permita la evaluación de la destrucción térmica en un determinado proceso de esterilización, se han desarrollado los siguientes conceptos:^{1,4,7}

Valor F: Tiempo equivalente a determinada temperatura a la que es sometido un contenedor o producto.

Valor D: Tiempo en minutos requerido para inactivar un logaritmo de la concentración del microorganismo utilizado en el reto biológico.

Valor **Z**: Cambio de temperatura en grados para cambiar el valor del **D** en un factor de 10

La esterilización por calor es una función de probabilidad, la cual es dependiente de:

- a. La concentración de microorganismos.
- b. La resistencia térmica de esos microorganismos.
- c. El tiempo de exposición al calor.

A continuación se describen estos términos más ampliamente:^{1,4,11}

1.3.1 Valor F

El valor de **F** es utilizado como una medida de la efectividad del proceso de esterilización **F(T, Z)** se define como el tiempo equivalente a la temperatura **T** a la que es sometido un contenedor o unidad de producto con el propósito de esterilización. Se calcula utilizando el valor específico de **Z**. El término **F₀** se define como el número de minutos equivalentes a 121 °C de esterilización con vapor a 121.1 °C a la que es sometido un contenedor o unidad de producto con el propósito de esterilización, calculado utilizando un valor de **Z = 10 °C**.

A manera de ejemplo, si se reporta un valor de $F_0 = 9$ significa que el proceso es equivalente a 9 minutos de exposición a 121.1 °C. Otra forma de expresar este caso es $F_{115.0} = 9$ que significa el tiempo X de exposición a una temperatura de 115.0 °C es equivalente a 9 minutos de exposición a 121.1 °C.

El término F_H es semejante al término F_0 y se utiliza para describir el número de minutos equivalentes en un proceso de esterilización por calor seco a una temperatura de 170 °C, calculado utilizando un valor de $Z = 20$ °C. Referente al valor de Z , se han reportado varios valores⁷ en el rango de 17 °C a 23 °C, de manera que 20 °C se considera como un valor adecuado.

Para establecer el factor de letalidad F_H deben realizarse los siguientes estudios:

- a. Estudios de laboratorio para determinar el número y la resistencia térmica de los microorganismos asociados con el producto. Con esta información debe determinarse el mínimo valor de F_H obtenido para asegurar que la probabilidad de supervivencia de la biocarga es menor a 10^{-6} .
- b. Evaluación de los indicadores biológicos utilizados para monitorear la letalidad del proceso.

Estudios en planta, para determinar:

- a. Adecuabilidad del esterilizador para proveer un calentamiento uniforme al medio (distribución de temperatura).
- b. Valor mínimo de F_H provisto por el proceso de esterilización.
- c. Reproducibilidad del ciclo para asegurar que el valor mínimo de F_H es consistente.

1.3.2 Valor D

El valor **D** está definido como el tiempo requerido para reducir una población microbiana en un 90%, o la reducción de un logaritmo a determinada condición de temperatura de exposición. La determinación del valor de **D** es necesaria para poder establecer el valor mínimo de F_H .

1.3.3 Valor Z

El valor **Z** está definido como el número de grados (Centígrados o Fahrenheit) que son necesarios para cambiar el valor de **D** en un factor de 10. El valor de **Z** es necesario para evaluar la letalidad del microorganismo a diferentes temperaturas.

1.4 MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE CALOR PARA PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN/DESPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO.

1.4.1 PROCESOS DE CALENTAMIENTO POR CONVECCIÓN ^{4,7}

El calentamiento por convección es el método de transferencia de calor dentro de un medio por movimiento de sus partes. Hay dos tipos de calentamiento por convección, la natural y la forzada. El calentamiento por convección natural es el resultado de las fuerzas generadas por la diferencia de densidad causadas por los gradientes de temperatura en la masa del fluido. La convección forzada se lleva a cabo por la acción de dispositivos mecánicos que favorecen el calentamiento, por ejemplo, ventiladores centrífugos.

La ecuación básica para la transferencia de calor por convección es la siguiente:

$$q/c = h_c \cdot A \cdot \Delta T \dots\dots\dots(1)$$

Donde:

q/c = Velocidad de transferencia de calor por convección, BTU/h

h_c = Unidad promedio de conductancia térmica (denominada coeficiente de superficie o coeficiente de transferencia de calor) BTU/h ft² °F

A = Área, ft²

ΔT = Diferencia entre la temperatura de la superficie y la temperatura del fluido en un punto específico, °F

Un ejemplo de este mecanismo es la esterilización/despirogenización por lotes, donde el aire caliente es forzado a fluir por medio de un ventilador.

1.4.2 PROCESOS DE CALENTAMIENTO POR CONDUCCIÓN ^{4,7}

El proceso de calentamiento por conducción está acompañado de dos mecanismos. El primero es aquel que involucra la interacción entre moléculas a un nivel más alto de energía, las cuales imparten energía a las moléculas adyacentes con energía más baja. El segundo mecanismo es la vía de los electrones libres, ya que los metales contienen una gran cantidad de electrones libres, por lo tanto poseen la habilidad de conducir el calor hacia los cuerpos con menor calor.

1.4.3 PROCESOS DE CALENTAMIENTO POR RADIACIÓN ^{1,4}

El calentamiento por radiación es aquel donde la energía fluye desde un cuerpo con alta temperatura a uno de menor temperatura, los cuales se encuentran separados por un espacio, aun cuando entre ellos existe vacío. El calor es emitido en forma de "paquetes" de energía cuántica sin la ayuda de un medio.

La ecuación básica para la transferencia de calor por radiación es la siguiente:

$$q_r = \sigma \cdot A \cdot T_1 \dots\dots\dots(3)$$

Donde:

q_r = Velocidad de flujo calorífico, BTU/h

σ = Constante de Stefan-Boltzmann (0.1714×10^{-8} BTU/h.ft². °R)

A = Área de la superficie del objeto que emite el calor, ft²

T_1 = Temperatura de la superficie del objeto que emite el calor °(grados Rankine)

Un ejemplo de este mecanismo son los túneles de esterilización/despirogenización.

1.5 EVALUACIÓN DE LA ESTERILIDAD

La prueba según la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 7a edición se fundamenta en la detección de formas viables de microorganismos, en medios de cultivo adecuados para crecimiento de bacterias, hongos y levaduras, que se encuentran como contaminantes en productos estériles.

En la validación de los procesos de esterilización por calor seco o calor húmedo, como se mencionó anteriormente, se realiza un reto microbiológico colocando concentraciones conocidas de esporas de microorganismos resistentes al calor (bioindicadores). La manera de evaluar la esterilidad en estos casos se realiza de dos maneras, la cual depende de la presentación de los bioindicadores. Normalmente los bioindicadores se encuentran disponibles en el mercado en dos presentaciones: Tiras de esporas del microorganismo de prueba y ampollitas de esporas del microorganismo de prueba, comercialmente denominados "sterikones". La evaluación de la esterilidad del bioindicador en presentación de tira, sometido a un ciclo de esterilización se realiza inoculando asépticamente la tira dentro de un tubo de ensaye con medio de cultivo (caldo de soya tripticaseína) la operación debe realizarse con pinzas estériles y bajo flujo laminar. Posteriormente a la inoculación, el tubo de ensaye es incubado junto con un testigo positivo, a la temperatura específica de crecimiento del microorganismo de prueba, por ejemplo: *Bacillus subtilis* de 20 a 25°C por 7 días, la presencia de turbiedad indica que el medio no es

estéril y por lo tanto que las condiciones de esterilización a las que fue sometido en bioindicador no son apropiadas". La evaluación de la esterilidad del bioindicador en presentación de ampollas, resulta más fácil y disminuye el riesgo de resultados falsos positivos, ya que el bioindicador después de haberse sometido al proceso de esterilización se incuba directamente junto con un testigo positivo, ya que este tipo de bioindicadores es una suspensión de esporas del microorganismo de prueba contenidas en un medio nutritivo y con la presencia de un indicador de pH, de manera que si el microorganismo durante la incubación llegara a desarrollarse, el viraje del indicador delataría la presencia del microorganismo y por lo tanto la ausencia de esterilidad.

1.6 EVALUACIÓN DE LA DESPIROGENIZACIÓN

Previamente a explicar el método para la evaluación de la despirogenización, es necesario definir el término "Endotoxinas".

Las endotoxinas son lipopolisacáridos (LPS), agentes patógenos de las bacterias gram-negativas y responsables de las diversas alteraciones patológicas que se comprueban en las infecciones por microorganismos gram-negativos. Estos LPS aislados producen reacciones patológicas como fiebre, disminución de la presión sanguínea y en grandes concentraciones pueden provocar shock y la muerte.

Luego de su biosíntesis en la membrana citoplasmática, los LPS son transportados hacia la superficie donde son retenidos como constituyentes vitales de la membrana celular. La liberación de los LPS de las bacterias ocurre luego de la muerte de los mismos y la ruptura de la célula, dichas sustancias tóxicas liberadas después de la muerte son denominadas endotoxinas.

Las endotoxinas o LPS están esquemáticamente constituidas por tres partes que, procediendo desde el exterior hacia el interior están conformadas de esta manera:

- *región I - cadena O específica (polisacáridos) antígenos somáticos
- *región II - núcleo R- específico (oligosacáridos)
- *región III - lípido A (glicofosfolípidos)

Las endotoxinas, una vez ingresadas al cuerpo humano, encuentran receptores en las plaquetas y leucocitos; además una pequeña parte permanece asociada a las paredes de los vasos sanguíneos alterando la permeabilidad y permitiendo, en el caso de los capilares que se encuentran en el intestino, un aumento en la absorción de endotoxinas.¹²

1.6.1 EL LAL TEST (Limulus Amebocyte Lysate)

El LAL TEST aprovecha la peculiaridad que una solución que contiene toxinas, añadida a una solución de un lisado obtenido de células de la hemolinfa del crustáceo *Limulus polyphemus* produce enturbiamiento, precipitación y gelificación de la mezcla misma.

Esta reacción ha sido también utilizada para descubrir la presencia de endotoxinas (pirógenos) en las soluciones inyectables de uso humano (contaminación pirogénica), en la sangre o en los otros fluidos del cuerpo o de los tejidos humanos (infecciones de bacterias gram-negativas).

El *Limulus polyphemus*, es denominado también cangrejo en forma de herradura; puede ser clasificado entre una araña y un camarón; es prehistórico y es considerado como un fósil viviente, el cual vive en la costa este de los Estados Unidos y en las costas de Japón.

El animal adulto es capturado, y mediante una inyección cardiovascular, se le extrae aproximadamente 200 mL de sangre. La sangre es colectada en recipientes que contienen un anticoagulante.

El color de dicha sangre es azul (azul claro en presencia de anticoagulante) dado que ésta no contiene hemoglobina sino hemocianina.

Luego la sangre es centrifugada y los amebocitos (células de la sangre) constituyen un sedimento blanco. Los amebocitos son recuperados y sometidos a diversos lavados mediante centrifugación, después de los lavados, las células son suspendidas en agua destilada y apirógena, son agitadas durante una noche a 5 °C para su lisis osmótica.

El resultado obtenido constituye el lisado de los amebocitos del *Limulus*. El LAL así preparado puede ser conservado a 5 °C, pero generalmente es liofilizado y mantenido en congelación.

La liofilización está precedida por una serie de procedimientos destinados a alejar a las sustancias que inhiben la sensibilidad del LAL.

La presencia de estas sustancias varía de acuerdo a las estaciones y a los años de recolección de la sangre.

El proceso de gelificación del lisado de amebocitos del *Limulus* inducido por las endotoxinas pasa a través de las fases de activación de una proenzima inicial a una encima tipo proteasa que a su vez cataliza la activación de otra proenzima hasta llegar, con una reacción en cascada, a la formación de una proteína coagulable

(coagulógeno) que se divide en peptide-C soluble y en peptide insoluble (coagulina) que es el monómero responsable del proceso de polimerización que lleva a la formación de un gel sólido.

La velocidad de este proceso depende de varios factores como por ejemplo la concentración de las endotoxinas, el pH y la temperatura. El gel formado es sólido, pero su estructura es delicada y susceptible de ruptura irreversible ya que es mecánicamente frágil.

La sensibilidad del lisado de los amebocitos del Limulus es definida como la mínima concentración de la endotoxina que forma un gel estable en las condiciones de la prueba.

1.7 TÚNEL DE ESTERILIZACIÓN Y DESPIROGENIZACIÓN

Los túneles de esterilización operan continuamente y se mantienen calientes por largos periodos de tiempo, disminuyendo su temperatura por la noche o en fines de semana para ahorrar energía. Los túneles pueden procesar cantidades mayores de viales o ampollitas de vidrio que los esterilizadores por lotes (hornos). Los túneles operan para esterilizar y despirogenizar materiales de vidrio de manera continua, de tal forma que presentan una ventaja sobre los esterilizadores por lotes, ya que son capaces de procesar sólo una cantidad exacta de material que es necesario para el lote de producción. Los túneles son capaces de mantener alimentada a la línea de llenado a medida que ésta lo demande.⁴

1.7.1 DESCRIPCIÓN DEL TÚNEL A CALIFICAR

- Identificación del equipo:

Equipo: Túnel de despirogenización clave TUN-04

Marca: Libra

Modelo: Blue Galaxy 550FL

No. de Serie: L99007

- Descripción funcional

El Túnel de despirogenización Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04 está diseñado para acoplarse en líneas de producción que requieren un continuo proceso de despirogenización por calor seco, al término del proceso de esterilización/despirogenización se obtendrán los siguientes resultados para cada tamaño de formato:

- Reducción de 3 logaritmos de una concentración de endotoxina sobre la superficie del contenedor.
- Un valor de F_H mínimo de 30.

El Túnel de despirogenización BLUE GALAXY 550FL. está integrado por 3 zonas:

1. Zona de entrada con flujo laminar.
2. Zona de calentamiento con flujo laminar.
3. Zona de enfriamiento con flujo laminar.

Todas las zonas son del mismo soporte, estructuras soldadas de acero inoxidable que están montadas sobre la base del mismo material.

Las ampollitas limpias y ligeramente húmedas son ordenadas y automáticamente depositadas por la máquina lavadora de ampollitas Libra clave LAV-10 en la banda

transportadora del Túnel en la zona de entrada. La banda transportadora del Túnel totalmente fabricada en acero inoxidable, tiene aletas laterales las cuales están directamente unidas a la cadena, por lo tanto se mueven a la misma velocidad que la banda. Así se asegura una fila compacta de ampollas. Las aletas están ligeramente desplazadas de las paredes para prevenir roces o deslizamiento laterales de la banda. La tensión y el manejo de la banda son asegurados por un motor con regulación de velocidad continua y por un rodillo el cual se compensa por algunos estiramientos debido al calor.

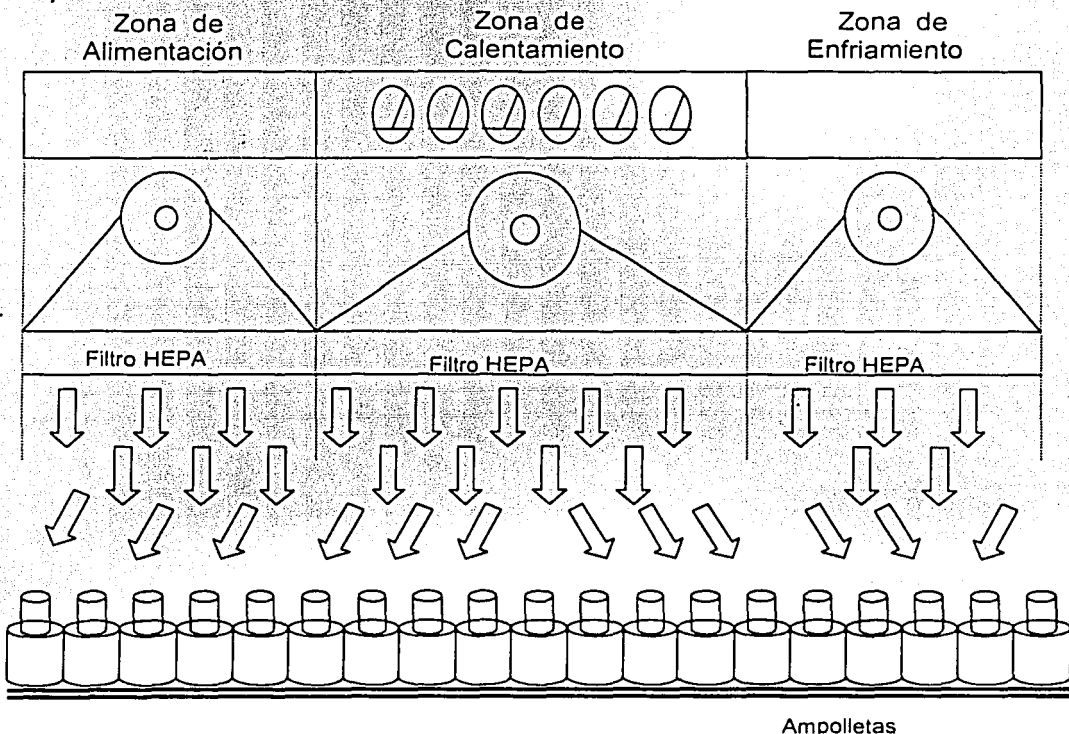
La banda permanece dentro del Túnel en la zona de alimentación y descarga, la cual está siempre protegida por el flujo laminar vertical. El curso de retorno de la banda pasa por afuera de la cámara de calentamiento a través de un canal cerrado y sellado que une la zona de alimentación con la zona de descarga; balanceando al mismo tiempo la diferencia de presión entre estos 2 canales.

Este sistema, asistido por un relevador de potencia en el canal de calentamiento, hace posible trabajar con una presión diferencial de 2,5 mm de columna de agua entre el área aséptica y el área del Túnel; la variación de $\pm 15\%$ es absorbida y balanceada automáticamente sin tener que alterar los parámetros del proceso.

La operación óptima del Túnel esta por lo tanto garantizada por las diferencias de presiones entre el canal del Túnel y la cámara estéril.

La estructura interna del Túnel garantiza un perfecto sellado de los filtros absolutos; el espacio circundante de la envoltura de todos los filtros absolutos y sus respectivos "plenums" están en contacto directo con la extracción creada por los ventiladores, de esta manera el perímetro de sellado afuera de los empaques, es mantenido a una presión más baja que la zona estéril. Así se elimina alguna posibilidad de que aire no filtrado entre en contacto con las ampollitas.¹²

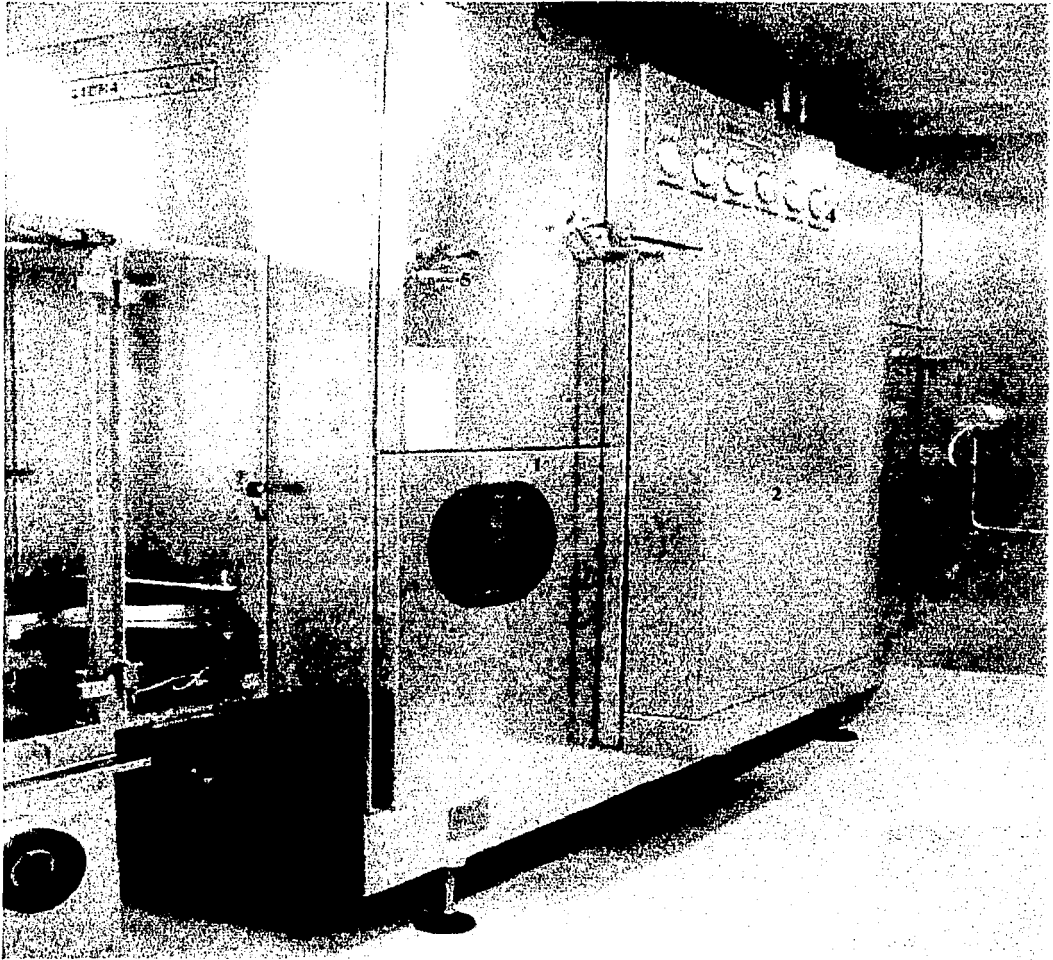
Figura 1. Túnel de despirogenización marca "Libra" modelo Blue Galaxy 550FL. Flujo de aire y materiales (Vista Lateral).



Ampollitas

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

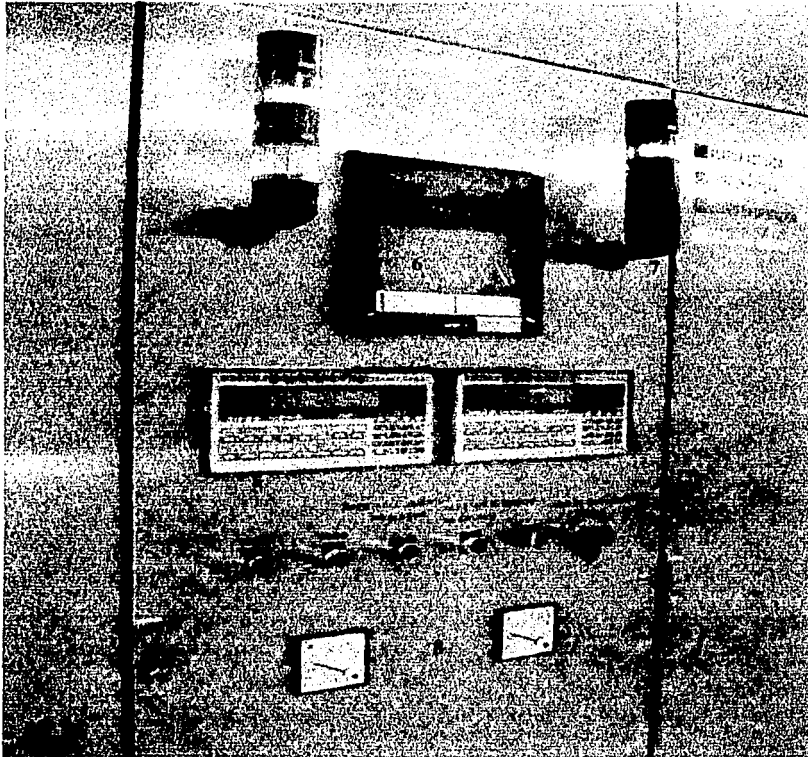
Figura 2. Túnel de despirogenización marca "Libra" modelo Blue Galaxy 550FL.



Componentes:

1.Zona de entrada 2.Zona de calentamiento 3.Zona de enfriamiento 4.Indicadores presión diferencial para filtración y prefiltración 5. Volante para apertura de mamparas

Figura 2. (Continuación) Túnel de despirogenización marca "Libra" modelo Blue Galaxy 550FL.



Componentes:

5. Tablero de control 6. Registrador 7. Torretas indicadoras 8. Amperímetros 9. Paro de emergencia.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Merck México es una compañía farmacéutica dedicada a comercializar productos químicos y farmacéuticos. Dentro de los mismos, se encuentra la fabricación de productos parenterales de bajo volumen. Con el motivo de satisfacer las necesidades de producción de la compañía, así como de contar con mejores equipos que aseguren la eficiencia de los procesos asépticos, se adquirió un nuevo túnel de esterilización marca Libra modelo Blue Galaxy, con el que se pretende satisfacer las necesidades de producción, así como asegurar un medio confiable y seguro de garantizar la esterilización y despirogenización de las ampollas utilizadas en los procesos de manufactura. Por lo anterior, resulta necesario realizar la calificación del túnel y validar el proceso de esterilización/despirogenización que en él se realizan.

La validación del proceso de despirogenización cumple con dos objetivos principales:

1. Garantizar la eficacia del equipo, lo cual tiende a garantizar la calidad del medicamento.
2. Contribuye al abatimiento de los costos, mejora de la productividad, minimiza los reprocesos y fallas en campo.

Lo anterior no solamente beneficia a la compañía que fabrica el medicamento, sino también, al consumidor del producto, ya que como principal beneficio le permite adquirir productos cuya inocuidad en términos de esterilidad en este caso, resulta confiable.

3. OBJETIVOS

3.1 OBJETIVO GENERAL

Establecer la evidencia documentada de que el túnel marca Libra modelo Blue Galaxy está instalado, opera y se desempeña de acuerdo a sus especificaciones de diseño y a lo establecido por Merck México S.A, así como validar el proceso de despirogenización que en él se realizan.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Realizar la calificación de instalación y operación del túnel marca Libra modelo Blue Galaxy.
- Validar el proceso de despirogenización para ampollitas de 1, 2 y 3 mL
- Obtener la evidencia documentada de que el proceso de esterilización/despirogenización es efectivo y consistente.

4. HIPÓTESIS DE TRABAJO

Mediante la elaboración y ejecución de un protocolo de calificación que contemple la metodología necesaria para llevar a cabo la calificación del túnel y la validación del proceso de despirogenización para ampollitas de 1, 2 y 3 mL, se obtendrá la evidencia documentada que permitirá garantizar la efectividad y consistencia del proceso.

5. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1 INSTRUMENTACIÓN

- Registrador multipuntos marca Kaye Digistrip 4S Plus, modelo X130025.
- Baño de temperatura constante marca Kaye Modelo HTR-400.
- RTD inteligente Modelo M2806.
- Tacómetro digital
- Calibrador digital.
- Contador de partículas no viables, Hiac Royco Modelo 243A.
- Cronómetro Cole Parmer, Exactitud: 0,001%, No de Identificación: CVC002.
- Equipo para prueba de integridad. (Fotómetro Air techniques)
- Multímetro Fluke, 8060A True RMS, 0-1000 Volts.
- Termoanemómetro AIR DATA Modelo ADM 870.

5.2 MATERIAL

- 20,000 ampollitas de vidrio, formato 1 mL
- 20,000 ampollitas de vidrio, formato 2 mL
- 20,000 ampollitas de vidrio, formato 3 mL

- 20 Termopares tipo T Cobre Constantano con cubierta de kapton de aproximadamente 5 metros de largo.
- Computadora portátil con software Kaye Validator.
- Tubos generadores de humo MSA. (Ventilación Smoke Tube Kit) No 458481.
- Soporte para termopares construidos de acero inoxidable.

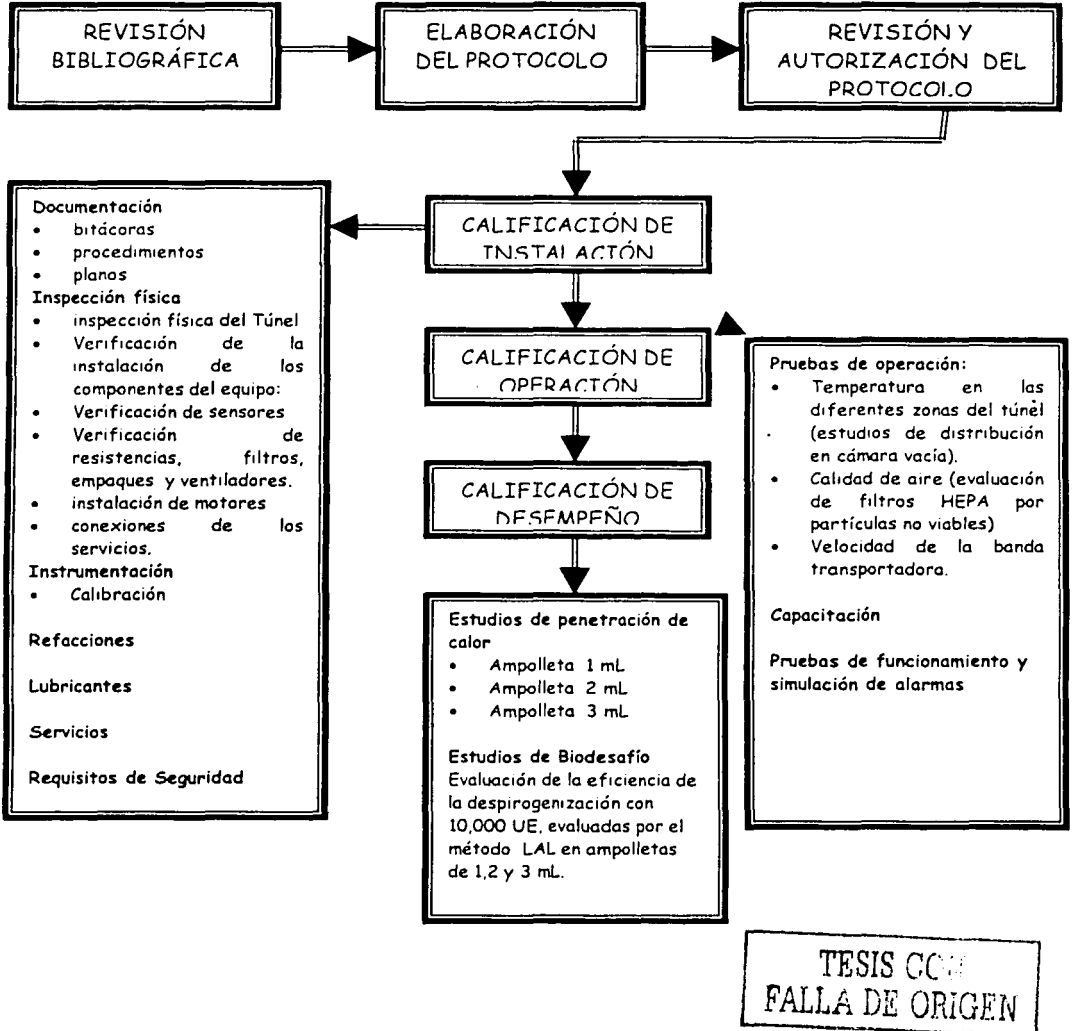
5.3 REACTIVOS

- Reactivo de lisado de amebocito de *Limulus polyphemus*. Marca Raven Co. Lote R5223
- Endotoxina obtenida de *E.coli*. Marca Raven Co. Lote R02501
- Agua libre de pirógenos.

6. METODOLOGÍA

6.1 DIAGRAMA DE FLUJO

Figura 3. Diagrama de flujo para la calificación del túnel de despirogenización y validación del proceso de despirogenización de ampollitas de 1, 2 y 3 ml.



6.2 Calificación del túnel

La calificación del túnel se realizó de acuerdo con un protocolo de calificación elaborado en el presente trabajo, según las políticas internas de Merck México S.A. Dicho protocolo fue revisado y aprobado previamente a su ejecución por el personal involucrado.

El protocolo de calificación contempló los siguientes puntos:

- 1.0 Objetivos
 - 2.0 Alcance
 - 3.0 Referencias
 - 4.0 Responsabilidades
 - 5.0 Generalidades
 - 6.0 Materiales y Equipo
 - 7.0 Desarrollo de actividades
 - 7.1 Calificación de Instalación
 - 7.2 Calificación de Operación
 - 7.3 Calificación de Desempeño (validación del proceso de despirogenización)
 - 8.0 Criterios de Aceptación
 - 8.1 Calificación de Instalación
 - 8.2 Calificación de Operación
-

8.3 Calificación de Desempeño

9.0 Desviaciones y Acciones Correctivas

10.0 Control de cambios

11.0 Aprobación

12.0 Criterios de Recalificación

13.0 Formatos y/o Anexos

La validación del proceso de despirogenización para las ampollitas de 1, 2 y 3 mL quedó contemplada dentro de la calificación de desempeño del túnel. El protocolo de calificación contempló los siguientes puntos:

- a. Estudio de distribución de calor en cámara vacía.
- b. Estudio de penetración de calor para ampollitas de 1, 2 y 3 mL.
- c. Reto microbiológico (evaluación del proceso de despirogenización) con endotoxina de *E.coli* a una concentración de 10,000 unidades.

6.3 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

A continuación se describen las actividades que se desarrollaron en la calificación de instalación del túnel Blue Galaxy 550 FL. Cabe aclarar que en la conformación de la carpeta de calificación del equipo se anexó toda la evidencia documentada de las actividades abajo mencionadas, pero para fines de este trabajo sólo se reportaron los resultados obtenidos en la sección de "resultados".

6.3.1 DOCUMENTACIÓN TÉCNICA

6.3.1.1 Se solicitaron y verificaron los planos eléctricos y diagramas de partes mecánicas del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04.

6.3.1.2 Se solicitaron y revisaron las bitácoras de Operación, Limpieza y Mantenimiento del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04.

6.3.1.3 Se solicitaron y revisaron los procedimientos de Operación, Limpieza y Mantenimiento del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04.

6.3.2 INSPECCIÓN FÍSICA

6.3.2.1 Se realizó una inspección física del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04, verificando los componentes que a continuación se indican:

- Banda Transportadora
- Correas de Transmisión del movimiento
- Verificación de las conexiones del suministro de energía eléctrica

-
- Verificación de la presencia y correcta instalación de los siguientes sensores:
 - Sonda de temperatura del aire de extracción 20TE64
 - Sensor de temperatura del aire de la zona de entrada 21TE62
 - Anemómetro para la velocidad de aire en la zona de entrada 21FT57
 - Anemómetro para la velocidad de aire del ventilador de extracción 22FT73
 - Transmisor de presión en la zona caliente 23FT58
 - Sonda del regulador de calentamiento en la zona caliente 24TE80
 - Sonda del registro de la temperatura del aire en la zona caliente 1, 24TE81
 - Sonda del registro de la temperatura del aire en la zona caliente 2, 24TE82
 - Sonda de temperatura máxima en la zona caliente 24TE65
 - Sonda de temperatura de aire en la zona de enfriamiento 25TE66
 - Anemómetro para la velocidad de aire en la zona de enfriamiento 25FT59
 - Dínamo de velocidad de la banda transportadora 26ST51
 - Transmisor de la temperatura del aire extraído 20TT64
 - Transmisor de la temperatura del aire de la zona de entrada 21TT62
 - Transmisor de la regulación de la temperatura de calentamiento de aire en la zona caliente 24TT80
 - Transmisor del registro de temperatura del aire en la zona caliente 1, 24TT81
 - Transmisor del registro de temperatura del aire en la zona caliente 2, 24TT82
 - Transmisor de temperatura máxima del aire en la zona caliente 24TT65
 - Transmisor de temperatura del aire en la zona de enfriamiento 25TT66
 - Transmisor de la cinta de transporte 26SY51
-

- Resistencias (tipo 500 mV).
- Se verificó la presencia y correcta instalación de los filtros y ventiladores.
- Se verificó la correcta instalación de los siguientes motores:
 - Motor del ventilador de extracción 20M1
 - Motor del ventilador de la zona de entrada 21M1
 - Motor del ventilador de Make up 22M1
 - Motor del ventilador de la zona caliente 23M1
 - Motor del ventilador de la zona de enfriamiento 25M1
 - Motor de la banda transportadora 26M1.
- Se verificó el panel de control.
- Se verificaron las conexiones de los servicios.
- Se verificó la correcta identificación e instalación de los servicios.

6.3.3 INSTRUMENTACIÓN

6.3.3.1 Se realizó un listado de los instrumentos de medición del equipo.

6.3.3.2 Se verificaron las etiquetas de calibración de la instrumentación del Túnel Libra clave TUN-04 y se verificó en los registros de calibración la siguiente información:

- Datos del instrumento.
- Vigencia de calibración.
- Se solicitaron y se verificó el programa de calibración de los instrumentos.

6.3.4 REFACCIONES

6.3.4.1 Se verificó el listado de refacciones, la identificación de las refacciones críticas y su existencia en almacén.

6.3.5 LUBRICANTES

6.3.5.1 Se solicitó y verificó la lista y tipo de lubricantes autorizados para los componentes del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04.

6.3.6 REQUERIMIENTOS DE SERVICIOS

6.3.6.1 Se verificaron las especificaciones de los servicios requeridos de agua helada y energía eléctrica, que marca el Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04.

6.3.7 REQUISITOS DE SEGURIDAD

6.3.7.1 Se verificó la existencia e instalación de:

- Guardas, aislamientos eléctricos, botones de paro de emergencia.
- Alarmas.

6.4 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

6.4.1 DOCUMENTACIÓN TÉCNICA

6.4.1.1 Se debe contar con los planos eléctricos y diagramas de partes mecánicas del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04, estos deben estar autorizados por el proveedor y por Merck México S.A.

6.4.1.2 Las bitácoras de Operación, Limpieza y Mantenimiento del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04 deben estar elaboradas y autorizadas para su uso.

6.4.1.3 Los procedimientos de Operación, Limpieza y Mantenimiento del Túnel Blue Galaxy 550 FL clave TUN-04, deben estar elaborados y autorizados, estos deben cubrir las actividades básicas de operación y mantenimiento sugeridas por el fabricante del equipo.

6.4.2 INSPECCIÓN FÍSICA

6.4.2.1 En general el túnel y todos sus componentes debe encontrarse en buen estado físico, la localización y codificación de los componentes debe corresponder a los planos y diagramas proporcionados por el fabricante del equipo.

6.4.3 INSTRUMENTACIÓN

6.4.3.1 Se debe contar con un listado de todos los instrumentos del equipo, donde se detalle marca, modelo, alcance de medición del instrumento.

6.4.3.2 Todos los instrumentos instalados en el túnel deben estar calibrados y tener adherida una etiqueta de calibración, la cual debe indicar la clave de los instrumentos, fecha de calibración y de recalibración y deberá estar autorizada por el responsable de la calibración del instrumento.

6.4.3.3 Se debe contar con los certificados de calibración de los instrumentos patrón, estos deberán estar vigentes y ser trazables al CENAM o NIST.

6.4.3.4 Todo el instrumental deberá estar contemplado en un programa de calibración.

6.4.4 REFACCIONES

6.4.4.1 Debe existir un listado de refacciones críticas de equipo elaborado por el departamento de mantenimiento de acuerdo a lo sugerido por el fabricante del equipo, estas refacciones críticas deben existir en el almacén y deben estar identificadas.

6.4.5 LUBRICANTES

6.4.5.1 Debe existir una lista de lubricantes elaborado por el departamento de mantenimiento de acuerdo a lo sugerido por el fabricante del equipo.

6.4.6 REQUERIMIENTOS DE SERVICIOS

6.4.6.1 El equipo debe contar con suministro eléctrico de 220 V 60 Hz \pm 5 y agua de enfriamiento (mínimo 15°C y 20 psi).

6.4.7 REQUISITOS DE SEGURIDAD

6.4.7.1 Deben estar instaladas las guardas, aislamientos eléctricos, botones de paro de emergencia de acuerdo a lo indicado en los diagramas mecánicos del túnel.

6.5 CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN

A continuación se describen las actividades desarrolladas en la calificación de operación del túnel Blue Galaxy 550 FL. Cabe aclarar que en la conformación de la carpeta de calificación del equipo se debe anexar toda la evidencia documentada de las actividades abajo mencionadas, pero para fines de este trabajo sólo se reportaron los resultados obtenidos en la sección de "resultados".

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

6.5.1 VERIFICACIÓN DE FUNCIONES Y ALARMAS

La siguiente tabla describe las principales funciones y alarmas verificadas en la calificación de operación del túnel.

Tabla 1. Verificación de funciones y alarmas.

PRUEBA	REQUERIMIENTOS	DESCRIPCIÓN	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Se verificó el funcionamiento de alarma de paro de emergencia.	Maquina funcionando	<ol style="list-style-type: none"> 1. Presionar el botón de paro de emergencia de la lavadora de ampollita. 2. Se verificó la aparición de la alarma en el panel de control. 3. Restaurar la máquina a condiciones normales de trabajo. 	La banda de transporte detiene su recorrido y en el panel de control del túnel aparece el mensaje "Paro de emergencia".
Se verificó el funcionamiento de alarma "apagón de suministro de energía".	Maquina parada	<ol style="list-style-type: none"> 1. Desconectar del dispositivo OKF1 para simular fallo en la línea principal. 2. Se verificó la aparición de la alarma y su mensaje en el panel de control. 3. Restaurar la máquina a condiciones normales de trabajo. 	En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA ALIMENTACIÓN PRINCIPAL - OKF1" la intervención de esta alarma bloquea la línea principal de alimentación.
Se verificó el funcionamiento de la alarma del motor del ventilador de extracción.	Maquina funcionando	<ol style="list-style-type: none"> 1. Simular la intervención del relevador térmico 20 QM1, localizado en la cabina eléctrica. 	<p>En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILADOR EXTRACCIÓN AIRE-20QM1"</p> <p>La alarma se activa por la intervención del térmico dedicado a la motorización del ventilador de expulsión del aire.</p> <p>El térmico interviene si la absorción del motor supera el valor programado en el térmico mismo.</p> <p>La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la banda transportadora y del sistema de calentamiento.</p>

Tabla 1. (Continuación) Verificación de funciones y alarmas.

Se verificó el funcionamiento del grupo 20 circuito 64. Alarma de máxima temperatura en el aire de extracción.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor 20TE64, cambiando el valor establecido como alarma en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA AIRE EXTRACCION- 20TT64" La alarma se activa cuando la temperatura detectada en el canal de expulsión del aire supera el valor programado en el panel operador (en general 70°C). Si la temperatura supera este umbral el ventilador de entrada aumenta el número de revoluciones, introduciendo una mayor cantidad de aire y lo mismo hace el ventilador de expulsión.
Se verificó el funcionamiento del grupo 21 circuito 54. Alarma del motor del ventilador de entrada.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del relevador térmico 21 QM1, localizado en la cabina eléctrica.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILADOR CÁMARA ENTRADA -21QM1" La alarma se activa por la intervención del térmico dedicado a la motorización del ventilador de la cámara de entrada. El térmico interviene si la absorción del motor supera el valor programado en el termino mismo. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verificó el funcionamiento del grupo 21 circuito 62. Alarma de temperatura en la zona de entrada.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor 21TE62, cambiando el valor establecido como alarma de alta temperatura en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA CÁMARA ENTRADA- 21TT62" La alarma se activa cuando la temperatura detectada en la zona de entrada supera el valor programado en el panel operador (en general 60°C). Si la temperatura supera este umbral el ventilador de entrada aumenta el número de revoluciones, introduciendo una mayor cantidad de aire, y lo mismo hace el ventilador de expulsión. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verificó el funcionamiento del grupo 21 circuito 57. Alarma de velocidad de aire en la zona de entrada.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor de velocidad de aire 21FT57, cambiando el valor establecido como baja velocidad de aire en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE CÁMARA ENTRADA- 21FT57" La alarma se activa cuando la velocidad del aire en la zona de entrada desciende por debajo del valor programado en el panel operador. La intervención de esta alarma puede ser provocada por la obstrucción del prefiltro y de los filtros del aire a los filtros o por la compuerta de entrada abierta durante demasiado tiempo. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.

Tabla 1. (Continuación) Verificación de funciones y alarmas.

Se verificó el funcionamiento del grupo 22 circuito 70 Alarma de motor del ventilador de reemplazo.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del relevador térmico 22 QM1, localizado en la cabina eléctrica.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMINICO VENTILAD.SOBREPRESION - 22QM1" La alarma se activa por la intervención del térmico dedicado a la motorización del ventilador de sobrepresión en la cámara caliente. El térmico interviene si la absorción del motor supera el valor programado en el térmico mismo. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verificó el funcionamiento del grupo 22 circuito 73 Alarma de velocidad de reemplazo.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor de velocidad de aire 22FT73, cambiando el valor establecido como baja velocidad de aire en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE SOBREPRESION- 22FT73" La alarma se activa cuando la velocidad del aire de sobrepresión en la cámara caliente desciende por debajo del valor programado en el panel operador. La intervención de esta alarma puede ser provocada por la excesiva obstrucción del prefiltro de la sobrealimentación o por el desequilibrio en la presión debido al bloqueo de un ventilador. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verificó el funcionamiento del grupo 23 circuito 55 Alarma del motor del ventilador de la zona caliente.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del relevador térmico 23 QM1, localizado en la cabina eléctrica.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMINICO VENTILAD CAMARA CALIENTE - 23QM1" La alarma se activa por la intervención del térmico dedicado a la motorización del ventilador de la cámara caliente. El térmico interviene si la absorción del motor supera el valor programado en el térmico mismo. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verificó el funcionamiento del grupo 23 circuito 58 Alarma de presión en la zona caliente.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor de velocidad de aire 23FT58, cambiando el valor establecido como baja velocidad de aire en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE CÁMARA CALIENTE - 23FT58" La alarma se activa cuando la velocidad del aire en la cámara caliente desciende por debajo del valor programado en el panel operador. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.

Tabla 1 (Continuación) Verificación de funciones y alarmas.

Se verifico el funcionamiento del grupo 24 circuito 65 Alarma de temperatura máxima en la zona caliente	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor 24TE65, cambiando el valor establecido como alarma de alta temperatura en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA CAMARA CALIENTE -24TT65" La alarma se activa cuando la temperatura detectada por la sonda que está arriba de los filtros supera el valor programado en el panel operador. Este valor normalmente es programado a 400°C (si se han instalado filtros tipo Camfil 1FRK). La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verifico el funcionamiento del grupo 24 circuito 80 Alarma de temperatura mínima en la zona caliente.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor 24TE80, cambiando el valor establecido como alarma de baja temperatura en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJA TEMPERATURA CAMARA CALIENTE -24TT80" La alarma se activa cuando la temperatura en la cámara caliente es inferior a más de 5°C con respecto al set-point. La alarma bloquea la banda transportadora.
Se verifico el funcionamiento del grupo 25 circuito 56 Alarma del motor del ventilador de la zona fria.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del relevador térmico 25 QM1, localizado en la cabina eléctrica.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILAD.CAMARA ENFRIAM.- 25QM1" La alarma se activa por la intervención del térmico dedicado a la motorización del ventilador de la cámara de enfriamiento. El térmico interviene si la absorción del motor supera el valor programado en el térmico mismo. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la Banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verifico el funcionamiento del grupo 25 circuito 66 Alarma de temperatura máxima en la zona fria.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor 25TE66, cambiando el valor establecido como alarma de alta temperatura en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA CAMARA ENFRIAM.- 25TT66" La alarma se activa cuando la temperatura detectada en la zona de enfriamiento supera el valor programado en el panel operador. La intervención de esta alarma puede ser provocada por el mal funcionamiento de las baterías de enfriamiento por la falta de agua de enfriamiento o por la velocidad de producción demasiado alta. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la banda transportadora y del sistema de calentamiento.
Se verifico el funcionamiento del grupo 25 circuito 59 Alarma de velocidad de aire en la zona fria.	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del sensor de velocidad de aire 25FT59, cambiando el valor establecido como baja velocidad de aire en el panel de control.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE CAMARA ENFRIAM.- 25FT59" La alarma se activa cuando la velocidad del aire en la zona de enfriamiento baja por debajo del valor programado en el panel operador. La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la banda transportadora y del sistema de calentamiento.

Tabla 1. (Continuación) Verificación de funciones y alarmas.

Se verifico el funcionamiento del grupo 26 circuito 52 Alarma del motor de la Banda transportadora	Maquina funcionando	1. Simular la intervención del relevador termico 26 QM1, localizado en la cabina eléctrica	<p>En el panel de control aparece el mensaje "ALARMA TERMICO BANDA TRANSPORT - 26QM1"</p> <p>La alarma se activa por la intervención del termico dedicado a al motorización de la banda transportadora</p> <p>El termico interviene si la absorcion del motor supera el valor programado en el termico mismo.</p> <p>La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la banda transportadora.</p>
Se verifico el funcionamiento del grupo 26 circuito 84 Alarma del limite de rotación de la Banda transportadora.	Maquina funcionando	1. Desconectar el sensor 26WS84, localizado en la caja motorizada de la maquina.	<p>En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA LIMITADOR TORQUE BANDA - 26WS84"</p> <p>La alarma se activa por la intervención del sensor colocado en el limitador de par de la motorización de la banda transportadora</p> <p>El sensor detecta constantemente la presión de un disco colocado en el limitador En el caso de que la cinta transportadora encuentre una excesiva resistencia en el avance, un mecanismo compuesto por una fricción con resorte de regulación interviene alejando el disco del sensor</p> <p>El sensor envia la señalización al control de la máquina que bloquea el funcionamiento de la cinta transportadora.</p>
Se verifico el funcionamiento del grupo 26 circuito 51 Alarma de velocidad de la banda transportadora.	Maquina funcionando	1. Desconectar la acometida de la señal del dinamo 26ST51, cable 26 30; 26.31; o cambiar el valor establecido para la velocidad de la banda en el panel de control.	<p>En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA ALTA VELOCIDAD BANDA - 26ST51H"</p> <p>La alarma se activa cuando el control de la maquina detecta una velocidad de la banda transportadora alta con respecto a los valores programados en el panel operador. Dicha condicion puede deberse a una averia en el inverter.</p> <p>La intervención de esta alarma bloquea el funcionamiento de la cinta transportadora.</p>

6.5.2 EVALUACIÓN DE FILTROS HEPA

A continuación se describen las pruebas realizadas en la calificación de los filtros HEPA instalados en el túnel.

6.5.2.1 PRUEBAS DE FLUJO DE AIRE ¹⁹

La prueba consistió en realizar mediciones de velocidad sobre la superficie del filtro a la distancia especificada por el fabricante o bien de 3-6 pulgadas de la superficie del filtro. Se evaluó la totalidad de la superficie del filtro. El instrumento de medida fue un anemómetro calibrado, capaz de medir con exactitud entre 50 y 480 pies/min. (0.25 – 2.4 m/s). El procedimiento consistió en dividir la superficie total del filtro en cuadrantes de un área no mayor a 1 pie² (0.09 m²) y medir la velocidad en cada cuadrante (se debe tener la precaución de no obstruir el flujo de aire) las mediciones fueron tomadas como mínimo por un lapso de 5 segundos. Las mediciones realizadas no deben variar más del 20% entre cuadrantes. Las velocidades deben encontrarse dentro de 0.36 -0.54 m/s o en su defecto lo indicado por el fabricante.

6.5.2.2 PRUEBA DE INTEGRIDAD

La evaluación de la integridad de filtros HEPA tiene como objetivo demostrar dos puntos: 1. Que la media filtrante no presenta perforaciones ni daño físico, y 2. Demostrar que el filtro se encuentra correctamente instalado, al evaluar el marco del filtro, ya que al instalarse un filtro debe garantizarse que los sellos son completamente herméticos.

A partir de los años 70, se ha desarrollado y perfeccionado la evaluación de la integridad de los filtros a través de la prueba de integridad por el método del aerosol,

en sus inicios el aerosol de prueba fue un aceite comercialmente disponible denominado DOP (Di-[2-Octil]ftalato). En enero 1992 la oficina de la Armada Americana da a conocer la sustitución del DOP por PAO (poly alpha olefin) ya que el DOP es asociado con problemas de cáncer. Desde entonces el PAO se adquiere comercialmente bajo el nombre de Emery 3004. La propiedad del Emery es que al ser calentado es capaz de generar una atmósfera saturada de partículas monodispersas de aproximadamente 0.1 a 0.5 micras en una concentración aproximada de 20 a 60 microgramos por litro. Lo anterior es el fundamento para la evaluación de la integridad de filtros por este método. La manera de evaluar la integridad de los filtros se reduce a simplemente inyectar por la parte posterior a la cara del filtro el aerosol acarreado en nitrógeno, la evaluación de la concentración que atraviesa en filtro se evalúa mediante un barrido de la superficie y marco del filtro con un espectrofotómetro específico para detectar el aerosol de prueba, por ejemplo Emery 3004. Los equipos actuales tienen una sensibilidad 0.01 a 0.0001 %, siendo la recomendación para filtros HEPA un % no mayor a 0.01% ¹⁸

6.5.2.3 CONTEO DE PARTÍCULAS ²⁰

La prueba consistió en realizar un conteo de partículas totales sobre la superficie y marco del filtro HEPA con la ayuda de un contador láser de partículas de acuerdo a lo indicado en el FED-STD-209E, a continuación se describe la prueba.

Con la ayuda de un contador láser de partículas se "escaneó" en su totalidad el marco y la superficie del filtro, las lecturas se realizaron aproximadamente a 5 cm de la superficie del filtro, el tiempo de muestreo fue el necesario para garantizar que por lo menos 20 partículas pudieran ser contabilizadas considerando que los filtros HEPA deben cumplir con una clase 100 (M3.5) de acuerdo a la tabla que a continuación se muestra: ⁹

Clase	Partículas iguales o mayores de 0.5 micras			
	SI	U.S	(m ³)	(ft ³)
M1			10.0	0.283
M1.5		1	35.3	1.00
M2			100	2.8
M2.5		10	353	10.0
M3			1,000	28.3
M3.5		100	3,530	100
M4			10,000	283
M4.5		1,000	35,300	1,000
M5			100,000	2,830
M5.5		10,000	353,000	10,000
M6			1,000,000	28,300
M6.5		100,000	3,530,000	100,000
M7			10,000,000	283,000

Tabla 2. Clasificación de la calidad de aire de acuerdo a la USP 24 ⁹

Por ejemplo, el volumen mínimo de muestra para una clase 100 (M 3.5) para partículas de 0.5 micras fue:

$$\text{Volumen: } 20 / (3530/\text{m}^3) = 0.00566 \text{ m}^3$$

por lo tanto el tiempo de muestreo fue:

$$0.00566 \text{ m}^3 / \text{velocidad de flujo del muestreador.}$$

El cual en este caso en particular (Hiac Royco Modelo 243A) es de $0.0283 \text{ m}^3/\text{min}$, por lo tanto:

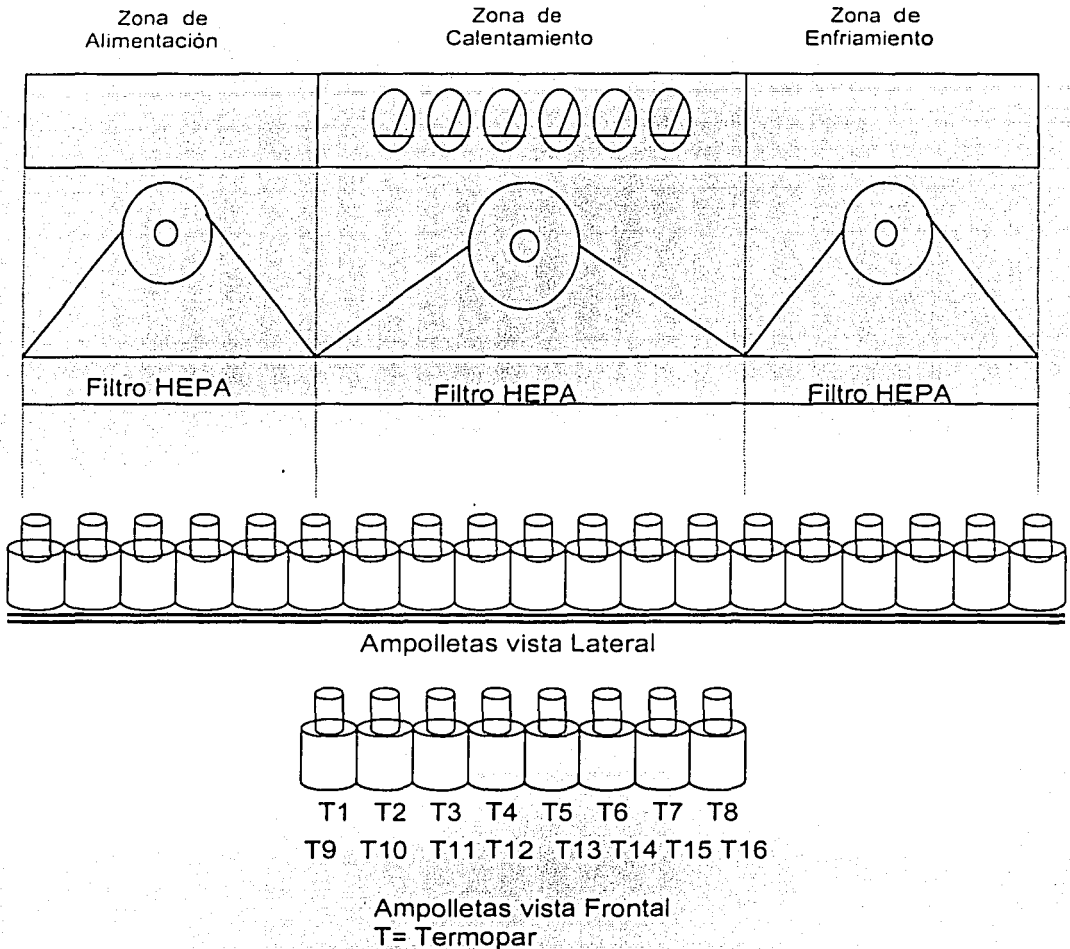
$$\text{Tiempo de muestreo: } 0.00566 \text{ m}^3 / 0.0283 \text{ m}^3/\text{min} = 0.2 \text{ minutos (12 segundos)}$$

Es decir, fueron suficientes 3 corridas de 12 segundos a través de la superficie del filtro y marco para realizar el conteo. El presente trabajo contempló realizar por triplicado corridas de 1 minuto sobre marco y media filtrante, por lo que el flujo mínimo se cumplió para todos los casos.

6.5.3 DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN CAMARA VACIA.

El estudio tuvo como objetivo evaluar la uniformidad de temperatura en la cámara vacía del túnel, para ello fue necesario distribuir un mínimo de 10 termopares a lo ancho de la banda de transporte, como lo indica la figura 3 y comenzar el avance de la banda bajo las condiciones normales de operación, monitoreando la temperatura con ayuda de un registrador multipuntos, en este caso de la marca Kaye (Registrador multipuntos marca Kaye Digistrip 4S Plus, modelo X130025) y se evaluó la uniformidad de temperatura dentro de la cámara. El estudio se condujo de la siguiente manera: Se realizó por triplicado un ciclo con la cámara vacía verificando que las puntas de los termopares no llegaran a tocar alguna parte del túnel y se inició el registro de temperaturas durante todo el tiempo del estudio hasta que los termopares indicaron la temperatura de la zona de enfriamiento. La colocación de los termopares fue de acuerdo a la figura 4.

Figura 4. Colocación de termopares en el túnel de despirogenización.



TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

A continuación se detalla punto por punto esta actividad.

Actividad	Descripción
1	Conectar el Digistrip 4S Plus a la computadora, así como el baño de calentamiento y el IRTD, mediante la interfase y los cables de comunicación.
2	Conectar los equipos a la línea eléctrica 127 V y encenderlos.
3	Para cargar el programa de validación siga los siguientes pasos: <ol style="list-style-type: none">En la PC Seleccionar el listado de programas del comando Inicio y activar el programa Kaye Validator.Al iniciar la carga del programa aparece una ventana donde se puede escribir el nombre del usuario, o bien aceptar el nombre de "Faul" "Calificación de Equipos).Se verificó la comunicación entre las conexiones, digistrip y la PC estén colocadas correctamente, para ello se activa el comando VER, en la pantalla de la PC aparece un diagrama de los equipos y sus respectivas conexiones, si estas aparecen en color verde, esto indica que la comunicación es correcta, en cambio si están en color rojo o negro es indicativo de que hay alguna falla y se deben revisar todas las conexiones.Para configurar el programa se debe realizar mediante la tecla "configurar" y se deberá contar con los datos de las condiciones de trabajo ya sea de calibración o calificación

Actividad	Descripción
-----------	-------------

(Rango de temperatura del estudio, tiempo de exposición de la prueba, nombre y código del equipo o instrumento, etc.)

- e) Una vez que se ha configurado el programa se debe transferir esta información al mismo, para que se pueda empezar con la calibración y/o cualificación, pulsando la tecla "transferir".
- f) Antes de calificar un equipo se deberá calibrar los termopares que se pretenden utilizar. La calibración deberá realizarse a tres puntos, de acuerdo a los siguientes parámetros:

Para autoclaves:

Punto bajo: 90°C
 Punto de verificación: 121°C
 Punto alto: 140°C

Para Túneles de despirogenización:

Punto bajo: 250°C
 Punto de verificación: 300°C
 Punto alto: 350°C

Para Hornos de despirogenización:

Punto bajo: 200°C
 Punto de verificación: 250°C
 Punto alto: 300°C

Los criterios de estabilidad y desviación para todos los casos deben ser los siguientes:

Estabilidad del sensor: 0.20°C durante 3 minutos.
 Estabilidad del IRTD: 0.012°C durante 1 minutos.
 Desviación del sensor sin calibrar: 1°C
 Desviación del sensor calibrado: 0.50 °C

Actividad	Descripción
	Los termopares deben ser exclusivamente tipo T, con recubrimiento de kapton o teflón.
	g) Después de calibrar los termopares el equipo se considera listo para ser utilizado.
	h) Configura nuevamente el programa pero con los datos del equipo a calificar, como se indicó en el inciso d.
4	Calificar el equipo de acuerdo a lo establecido en el protocolo correspondiente.
5	Una vez concluida la o las corridas de calificación se cierra el programa Kaye Validator y se desconecta el equipo.
6	Limpiar la zona de trabajo y revisar los termopares.
7	Repetir este procedimiento cuantas veces sea necesario para la validación del proceso.

Con los datos generados se evaluaron las diferencias de temperatura presentadas por los termopares colocados a lo largo de la banda transportadora.

6.6 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN

6.6.1 VERIFICACIÓN DE FUNCIONES Y ALARMAS

Todas las funciones y alarmas deben cumplir con lo descrito en la sección "CRITERIO DE ACEPTACIÓN" de la tabla 1.

6.6.2 PRUEBAS DE FLUJO DE AIRE

Las mediciones realizadas no deben variar más del 20% entre cuadrantes. Las velocidades deben encontrarse dentro de 0.50 -0.70 m/s para los filtros instalados en la cámara de entrada y enfriamiento, para el filtro instalado en la cámara de despirogenización 1.2 - 1.80 m/s.

6.6.3 PRUEBA DE INTEGRIDAD

Los filtros HEPA no deben presentar una fugacidad mayor al 0.01% en ninguno de los puntos muestreados durante la prueba de integridad con EMERY 3004.

6.6.4 CONTEO DE PARTICULAS

El conteo de partículas debe cumplir con una clase 100 de acuerdo a lo indicado en el FED-STD-209E, es decir:

Tamaño de partícula (micras)	Máximo permitido (m ³)
0.3	10,600
0.5	3,530
5	0
10	0

Tabla 3. Límites para partículas totales en clase 100.¹⁶

6.6.5 DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN CAMARA VACIA.

La variación de temperatura en la parte central de la cámara de calentamiento debe ser menor a 15 °C. es decir entre el termopar más caliente y el menos caliente debe existir un ΔT menor a 15 °C.

6.7 CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO (VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DESPIROGENIZACIÓN)

A continuación se describen las actividades que se desarrollaron en la calificación de desempeño del túnel Blue Galaxy 550 FL. Cabe aclarar que en la conformación de la carpeta de calificación del equipo se anexó toda la evidencia documentada de las actividades abajo mencionadas, pero para fines de este trabajo sólo se reportaron los resultados obtenidos en la sección de "resultados"

6.7.1 ESTUDIOS DE PENETRACIÓN DE CALOR EN CAMARA CON CARGA.

La prueba consistió en realizar un ciclo con carga (ampollitas), colocando mínimo 8 termopares y 3 indicadores biológicos (Endotoxina con 10,000 UE), se marcaron los recipientes con el número correspondiente de cada termopar. Los ciclos de despirogenización se realizaron a la velocidad máxima de la banda del túnel. Los termopares se colocaron en la parte frontal de la carga, ya que esta representa la zona crítica de despirogenización, así como al final de la carga fueron colocados tres indicadores biológicos (ampolleta con 10,000 UE de *E.coli*). Al finalizar el ciclo se retiraron los indicadores biológicos y termopares en condiciones asépticas.

El operador tomó los indicadores biológicos tal como están y los cubrió con una envoltura de papel aluminio y los pasó por la esclusa de materiales para su análisis. El laboratorio de microbiología analizó y reportó resultados de dichos análisis. La metodología anterior fue realizada por triplicado.

6.7.2 METODOLOGIAS DEL USO DEL LAL TEST

La ejecución del LAL TEST puede ser efectuada mediante una de las siguientes metodologías:

1. Reacción de gelificación en condiciones adecuadas y observación visual (macrométodo o micrométodo)
2. Reacción de gelificación en condiciones adecuadas y en presencia de un sustrato cromógeno (amarillo), lectura del color con un fotómetro

La metodología 1 (Micrométodo) fue la utilizada en el presente estudio, a continuación se describe:

Además del método visual denominado también "gel estable" o "coagulogel", se puede recurrir a métodos turbidimétricos (nefelometría y espectrofotometría) y colorimétricos (visual o espectrofotometría)

6.7.2.1 Macrométodo.

En cada tubo de prueba, de un diámetro de 10 mm y de una altura aproximada de 75 mm, mantenido a una temperatura de 37 ± 1 °C evitando cualquier vibración, en un baño María, se agregan 0.1 ml de lisado.

A intervalos de tiempo tales como para permitir la lectura de cada tubo luego de haber transcurrido el tiempo de incubación requerido, se agregan 0.1 mL de la solución adecuada y se mezcla delicadamente.

Se deja en incubación cada tubo, sin moverlo, durante un período constante de 60 minutos, luego se lee y se anota el resultado de la reacción.

Una reacción positiva está caracterizada por la formación de un gel estable, tal que no debe romperse cuando el tubo es volteado delicadamente en 180°.

Una reacción negativa está caracterizada por la ausencia de dicho gel.⁹

6.7.2.2 Micrométodo.

En la superficie de un vidrio, convenientemente siliconado, se colocaron, usando una micropipeta, 10 µl de lisado.

Se agregaron 10 µl de la muestra examinada y se mezcló con la ayuda de un tubo capilar.

Se colocó un control negativo y positivo en forma separada, con la misma técnica, en el vidrio. (las burbujas de aire fueron evitadas o eliminadas)

Todas las gotas puestas en el vidrio fueron agitadas ligeramente cuando el mismo fue agitado delicadamente.

El vidrio fue colocado en una cámara de incubación previamente calentada a 37° C y que consiste en una caja de plástico con varillas de vidrio sirven de soporte al vidrio.

El ensamblaje íntegro se colocó en un termostato a 37 ± 1 °C por 60 minutos.

Después del tiempo de incubación se quitó el vidrio del termostato y se observó el estado de cada gota, inclinando el vidrio a 45° y golpeteándolo o haciéndolo vibrar delicadamente.

Una reacción positiva está caracterizada por un gel estable, es decir, un gel que no se disgregue cuando la superficie es inclinada delicadamente en 45°.

Una reacción negativa está caracterizada por la ausencia de dicho gel.⁹

6.8 CRITERIOS DE ACEPTACIÓN PARA LA CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO

6.8.1 ESTUDIOS DE PENETRACIÓN DE CALOR EN CAMARA CON CARGA.

Los valores de F_H obtenidos durante la duración de los ciclos de despirogenización deberán ser mayores a 30 para todos los casos, considerando una temperatura base de 250°C y un valor de $Z=46.4$.

6.8.2 EVALUACIÓN DE LA DESPIROGENIZACIÓN

Todos los bioindicadores evaluados después del proceso de despirogenización deben resultar negativos, al evaluarse por el método del LAL test.

7. RESULTADOS

7.1 RESULTADOS CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

7.1.1 DOCUMENTACIÓN TÉCNICA

Tabla 4. Documentación técnica

Item	Cumple (Si/No)
Planos eléctricos y diagramas de partes mecánicas.	Si
Bitácoras de Operación, Limpieza y Mantenimiento.	Si
Procedimientos de Operación, Limpieza y Mantenimiento	Si

7.1.2 INSPECCIÓN FÍSICA

Tabla 5. Inspección física

Item	Cumple (Si/No)
Banda Transportadora.	Si
Correas de Transmisión del movimiento	Si
Conexiones del suministro de energía eléctrica	Si
Sonda de temperatura del aire de extracción 20TE64	Si
Sensor de temperatura del aire de la zona de entrada 21TE62	Si
Anemómetro para la velocidad de aire en la zona de entrada 21FT57	Si
Anemómetro para la velocidad de aire del ventilador de extracción 22FT73	Si
Transmisor de presión en la zona caliente 23FT58	Si
Sonda del regulador de calentamiento en la zona caliente 24TE80	Si
Sonda del registro de la temperatura del aire en la zona caliente 1, 24TE81	Si
Sonda del registro de la temperatura del aire en la zona caliente 2, 24TE82	Si
Sonda de temperatura máxima en la zona caliente 24TE65	Si

Tabla 5. (Continuación) Inspección física

Sonda de temperatura de aire en la zona de enfriamiento 25TE66	Si
Anemómetro para la velocidad de aire en la zona de enfriamiento 25FT59	Si
Dinamo de velocidad de la banda transportadora 26ST51	Si
Transmisor de la temperatura del aire extraído 20TT64	Si
Transmisor de la temperatura del aire de la zona de entrada 21TT62	Si
Transmisor de la regulación de la temperatura de calentamiento de aire en la zona caliente 24TT80	Si
Transmisor del registro de temperatura del aire en la zona caliente 1, 24TT81	Si
Transmisor del registro de temperatura del aire en la zona caliente 2, 24TT82	Si
Transmisor de temperatura máxima del aire en la zona caliente 24TT65	Si
Transmisor de temperatura del aire en la zona de enfriamiento 25TT66	Si
Transmisor de la cinta de transporte 26SY51.	Si
Resistencias (tipo 500 mV).	Si
Instalación de los filtros y ventiladores.	Si
Motor del ventilador de extracción 20M1	Si
Motor del ventilador de la zona de entrada 21M1	Si
Motor del ventilador de Make up 22M1	Si
Motor del ventilador de la zona caliente 23M1	Si
Motor del ventilador de la zona de enfriamiento 25M1	Si
Motor de la banda transportadora 26M1.	Si
Panel de control.	Si
Conexiones e identificación de los servicios.	Si

7.1.3 INSTRUMENTACIÓN

Tabla 6. Instrumentación

Instrumento	Calibrado (Si/No)
Sonda de temperatura del aire de extracción 20TE64	Si
Sensor de temperatura del aire de la zona de entrada 21TE62	Si
Anemómetro para la velocidad de aire en la zona de entrada 21FT57	Si
Anemómetro para la velocidad de aire del ventilador de extracción 22FT73	Si
Sonda del regulador de calentamiento en la zona caliente 24TE80	Si
Sonda del registro de la temperatura del aire en la zona caliente 1, 24TE81	Si
Sonda del registro de la temperatura del aire en la zona caliente 2, 24TE82	Si
Sonda de temperatura máxima en la zona caliente 24TE65	Si
Sonda de temperatura de aire en la zona de enfriamiento 25TE66	Si
Anemómetro para la velocidad de aire en la zona de enfriamiento 25FT59	Si

7.1.4 REFACCIONES Y LUBRICANTES

Tabla 7. Refacciones y lubricantes

Item	Cumple (Si/No)
Listado de refacciones.	Si
Existencia en el almacén e identificación de refacciones.	Si
Listado de lubricantes.	Si

7.1.5 REQUERIMIENTOS DE SERVICIOS Y REQUISITOS DE SEGURIDAD

Tabla 8. Requerimientos de servicios y requisitos de seguridad

Item	Cumple (Si/No)
Agua helada	Si
Energía eléctrica	Si
Existencia de aislamientos eléctricos, botón de paro de emergencia	Si
Alarma sonora	Si

7.2 RESULTADOS CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN**7.2.1 VERIFICACIÓN DE FUNCIONES Y ALARMAS**

Tabla 9. Verificación de funciones y alarmas

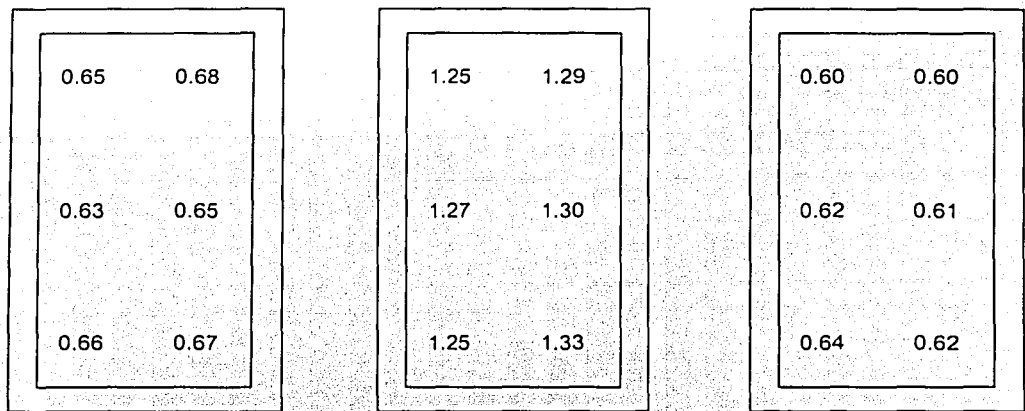
PRUEBA	CRITERIO DE ACEPTACIÓN	CUMPLE (SI/NO)
Alarma de paro de emergencia.	La banda de transporte detiene su recorrido y en el panel de control del túnel aparece el mensaje "Paro de emergencia".	Si
Alarma "apagón del suministro de energía".	En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA ALIMENTACIÓN PRINCIPAL -OKF1" la intervención de esta alarma bloquea la línea principal de alimentación.	Si
Alarma de máxima temperatura en el aire de extracción.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA AIRE EXTRACCION-20TT64"	Si
Alarma del motor del ventilador de entrada.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILADOR CÁMARA ENTRADA -21QM1"	Si
Alarma de temperatura en la zona de entrada.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA CÁMARA ENTRADA-21TT62"	Si
Alarma de velocidad de aire en la zona de entrada.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE CAMARA ENTRADA-21FT57"	Si
Alarma de motor del ventilador de reemplazo.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILAD.SOBREPRESIÓN -22QM1"	Si

Tabla 9. (Continuación) Verificación de funciones y alarmas

Alarma de velocidad de reemplazo.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE SOBREPRESIÓN-22FT53"	Si
Alarma del motor del ventilador de la zona caliente.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILAD.CÁMARA CALIENTE - 23QM1"	Si
Alarma de presión en la zona caliente.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE CÁMARA CALIENTE - 23FT58"	Si
Alarma de temperatura máxima en la zona caliente	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA CÁMARA CALIENTE - 24TT65"	Si
Alarma de temperatura mínima en la zona caliente.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJA TEMPERATURA CÁMARA CALIENTE - 24TT80"	Si
Alarma del motor del ventilador de la zona fría.	En el panel de control aparece el mensaje: "TÉRMICO VENTILAD.CÁMARA ENFRIAM.- 25QM1"	Si
Alarma de temperatura máxima en la zona fría.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALTA TEMPERATURA CÁMARA ENFRIAM.- 25TT66"	Si
Alarma de velocidad de aire en la zona fría.	En el panel de control aparece el mensaje: "BAJO FLUJO AIRE CÁMARA ENFRIAM.- 25FT59"	Si
Alarma del motor de la Banda transportadora.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA TÉRMICO BANDA TRANSPORT.- 26QM1"	Si
Alarma del límite de rotación de la Banda transportadora.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA LIMITADOR TORQUE BANDA - 26WS84"	Si
Alarma de velocidad de la banda transportadora.	En el panel de control aparece el mensaje: "ALARMA ALTA VELOCIDAD BANDA - 26ST51H"	Si

7.2.2 EVALUACIÓN DE FILTROS HEPA

7.2.2.1 PRUEBAS DE FLUJO DE AIRE (velocidades en m/s)



Filtro Cámara de Alimentación

Filtro Cámara de Calentamiento

Filtro Cámara de Enfriamiento

Figura 5. Velocidades de aire en los filtros HEPA del túnel.

7.2.2.2 PRUEBA DE INTEGRIDAD

1	2	3	4	5	6	7	8		
38	39	40	41	42	43	44	45	9	
37								10	
36	46	47	48	49	50	51	52	11	
35	53	54	55	56	57	58	59	12	
34								13	
33	60	61	62	63	64	65	66	14	
32	67	68	69	70	71	72	73	15	
31	74	75	76	77	78	79	80	16	
30								17	
29	81	82	83	84	85	86	87	18	
28	88	89	90	91	92	93	94	19	
27	26	25	24	23	22	21	20		

Filtro Cámara de Alimentación
FILTRO A

1	2	3	4	5	6	7	8		
38	39	40	41	42	43	44	45	9	
37								10	
36	46	47	48	49	50	51	52	11	
35	53	54	55	56	57	58	59	12	
34								13	
33	60	61	62	63	64	65	66	14	
32	67	68	69	70	71	72	73	15	
31	74	75	76	77	78	79	80	16	
30								17	
29	81	82	83	84	85	86	87	18	
28	88	89	90	91	92	93	94	19	
27	26	25	24	23	22	21	20		

Filtro Cámara de Calentamiento
FILTRO B

1	2	3	4	5	6	7	8		
38	39	40	41	42	43	44	45	9	
37								10	
36	46	47	48	49	50	51	52	11	
35	53	54	55	56	57	58	59	12	
34								13	
33	60	61	62	63	64	65	66	14	
32	67	68	69	70	71	72	73	15	
31	74	75	76	77	78	79	80	16	
30								17	
29	81	82	83	84	85	86	87	18	
28	88	89	90	91	92	93	94	19	
27	26	25	24	23	22	21	20		

Filtro Cámara de Enfriamiento
FILTRO C

Figura 6. Puntos de muestreo evaluados en la integridad de los filtros HEPA con EMERY 3004.

Tabla 10. Porcentajes de fuga obtenidos al evaluar la integridad de los filtros HEPA con EMERY 3004.

Punto de muestreo	Filtro A	Filtro B	Filtro C	Punto de muestreo	Filtro A	Filtro B	Filtro C
1	0.0004	0.0013	0.0000	51	0.0000	0.0000	0.0000
2	0.0000	0.0015	0.0000	52	0.0000	0.0000	0.0000
3	0.0000	0.0010	0.0000	53	0.0005	0.0000	0.0000
4	0.0000	0.0000	0.0000	54	0.0005	0.0000	0.0000
5	0.0000	0.0000	0.0000	55	0.0000	0.0005	0.0000
6	0.0000	0.0000	0.0000	56	0.0000	0.0010	0.0000
7	0.0000	0.0000	0.0000	57	0.0000	0.0011	0.0000
8	0.0000	0.0000	0.0000	58	0.0000	0.0011	0.0000
9	0.0000	0.0000	0.0000	59	0.0000	0.0000	0.0000
10	0.0005	0.0004	0.0000	60	0.0000	0.0000	0.0000
11	0.0008	0.0000	0.0000	61	0.0000	0.0000	0.0000
12	0.0000	0.0000	0.0000	62	0.0000	0.0000	0.0000
13	0.0000	0.0009	0.0000	63	0.0000	0.0000	0.0000
14	0.0000	0.0009	0.0000	64	0.0000	0.0000	0.0000
15	0.0000	0.0000	0.0000	65	0.0000	0.0000	0.0000
16	0.0000	0.0000	0.0000	66	0.0000	0.0000	0.0000
17	0.0000	0.0000	0.0000	67	0.0000	0.0000	0.0000
18	0.0000	0.0000	0.0000	68	0.0004	0.0000	0.0000
19	0.0000	0.0000	0.0000	69	0.0007	0.0000	0.0000
20	0.0000	0.0008	0.0000	70	0.0008	0.0000	0.0000
21	0.0000	0.0005	0.0000	71	0.0000	0.0000	0.0000
22	0.0008	0.0000	0.0000	72	0.0000	0.0000	0.0000
23	0.0008	0.0000	0.0000	73	0.0000	0.0000	0.0000
24	0.0000	0.0000	0.0000	74	0.0000	0.0000	0.0000
25	0.0000	0.0000	0.0000	75	0.0000	0.0000	0.0000
26	0.0000	0.0000	0.0000	76	0.0000	0.0009	0.0000
27	0.0000	0.0000	0.0000	77	0.0000	0.0009	0.0000
28	0.0000	0.0000	0.0000	78	0.0000	0.0009	0.0000
29	0.0000	0.0000	0.0000	79	0.0000	0.0009	0.0000
30	0.0000	0.0005	0.0000	80	0.0000	0.0000	0.0000
31	0.0008	0.0000	0.0000	81	0.0000	0.0000	0.0000
32	0.0000	0.0000	0.0000	82	0.0000	0.0000	0.0000
33	0.0000	0.0000	0.0000	83	0.0000	0.0000	0.0000
34	0.0000	0.0000	0.0000	84	0.0003	0.0000	0.0000
35	0.0000	0.0000	0.0000	85	0.0000	0.0000	0.0000
36	0.0000	0.0000	0.0000	86	0.0000	0.0000	0.0000
37	0.0000	0.0000	0.0000	87	0.0000	0.0000	0.0000
38	0.0008	0.0000	0.0000	88	0.0008	0.0005	0.0000
39	0.0000	0.0000	0.0000	89	0.0008	0.0003	0.0000
40	0.0000	0.0000	0.0000	90	0.0000	0.0002	0.0000
41	0.0000	0.0000	0.0000	91	0.0000	0.0002	0.0000

Tabla 10. (Continuación) Porcentajes de fuga obtenidos al evaluar la integridad de los filtros HEPA con EMERY 3004.

42	0.0000	0.0009	0.0000	92	0.0000	0.0002	0.0000
43	0.0000	0.0009	0.0000	93	0.0000	0.0002	0.0000
44	0.0000	0.0009	0.0000	94	0.0000	0.0000	0.0000
45	0.0000	0.0000	0.0000				
46	0.0000	0.0000	0.0000				
47	0.0000	0.0000	0.0000				
48	0.0000	0.0000	0.0000				
49	0.0000	0.0000	0.0000				
50	0.0003	0.0000	0.0000				

7.2.2.3 CONTEO DE PARTÍCULAS

Tabla 11. Partículas totales por metro cúbico evaluadas en marco y superficie de filtros HEPA.

Diámetro de partícula		0.3 μm	0.5 μm	5 μm	10 μm	
Filtro A	Marco	Corrida 1	25	6	0	0
		Corrida 2	32	6	0	0
		Corrida 3	28	5	0	0
		Promedio	28	6	0	0
	Superficie	Corrida 1	15	2	0	0
		Corrida 2	19	2	0	0
		Corrida 3	21	3	0	0
		Promedio	18	2	0	0
Diámetro de partícula		0.3 μm	0.5 μm	5 μm	10 μm	
Filtro B	Marco	Corrida 1	14	8	0	0
		Corrida 2	18	8	0	0
		Corrida 3	21	8	0	0
		Promedio	18	8	0	0
	Superficie	Corrida 1	18	6	0	0
		Corrida 2	14	6	0	0
		Corrida 3	14	3	0	0
		Promedio	15	5	0	0
Diámetro de partícula		0.3 μm	0.5 μm	5 μm	10 μm	
Filtro C	Marco	Corrida 1	32	36	0	0
		Corrida 2	32	33	0	0
		Corrida 3	32	33	0	0
		Promedio	32	34	0	0
	Superficie	Corrida 1	18	26	0	0
		Corrida 2	18	22	0	0
		Corrida 3	21	22	0	0
		Promedio	19	23	0	0

7.2.2.4 DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN CAMARA VACIA

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la distribución de calor en cámara vacía, los resultados se encuentran organizados de la siguiente manera:

Corrida 1. figura 7.

Corrida 2. figura 8.

Corrida 3. figura 9.

tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
1	99.7	62.6	37.1
2	112.3	69.4	42.9
3	202.1	87.1	115.0
4	194.3	91.1	103.2
5	164.4	103.1	61.3
6	269.8	222.4	47.4
7	306.9	287.6	19.3
8	309.5	295.4	14.1
9	309.9	299.6	10.3
10	309.2	299.9	9.3
11	309.3	297.7	11.6
12	309.7	299.1	10.6
13	310.0	300.6	9.4
14	331.9	301.8	30.1
15	329.9	304.2	25.7
16	329.0	305.2	23.8
17	328.6	305.9	22.7
18	322.5	304.9	17.6
19	314.3	285.5	28.8
20	322.0	217.1	104.9
21	226.9	123.3	103.6
22	193.8	68.3	125.5
23	97.8	46.5	51.3
24	58.9	30.5	28.4
25	50.9	27.4	23.5

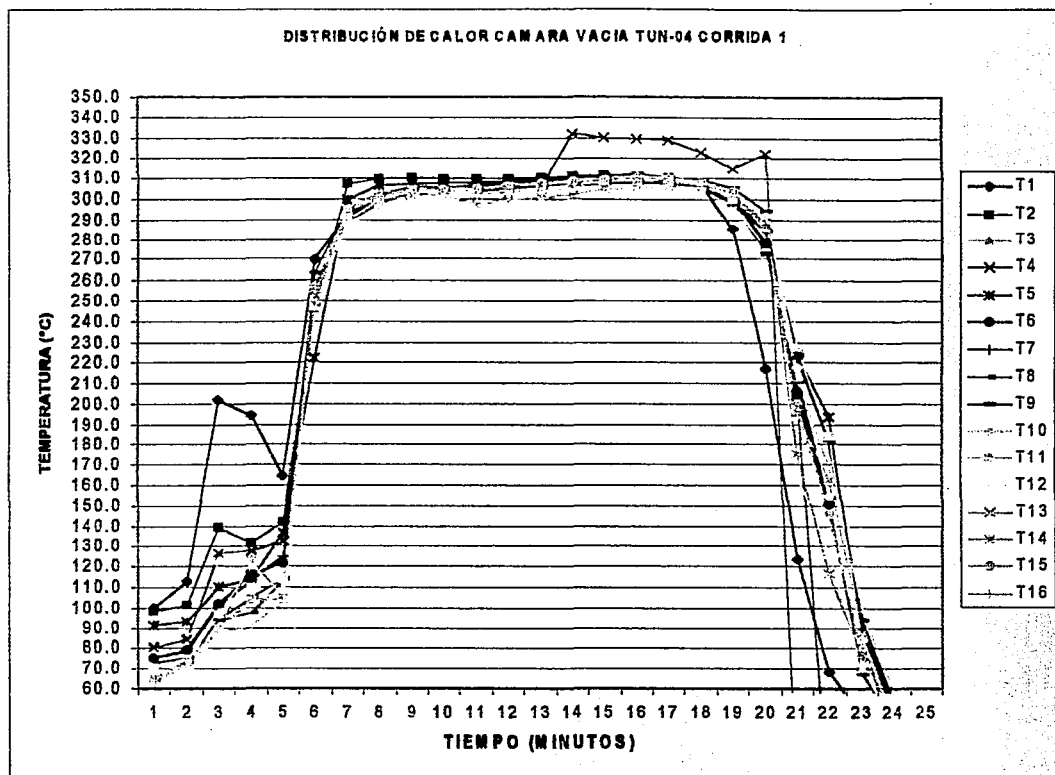


Figura 7. Distribución de calor en cámara vacía TUN-04 corrida 1 de 3

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
1	178.8	99.5	79.3
2	200.3	114.5	85.8
3	316.4	193.2	123.2
4	292.1	275.0	17.1
5	299.3	287.4	11.9
6	301.0	291.9	9.1
7	301.1	293.5	7.6
8	301.6	295.1	6.5
9	303.0	298.2	4.8
10	305.8	301.3	4.5
11	308.4	302.6	5.8
12	309.9	304.5	5.4
13	310.8	305.1	5.7
14	311.0	306.1	4.9
15	310.9	306.4	4.5
16	310.8	307.0	3.8
17	309.7	306.0	3.7
18	307.6	303.5	4.1
19	299.4	282.2	17.2
20	256.8	162.1	94.7
21	246.5	155.9	90.6
22	114.4	90.3	24.1
23	89.9	66.6	23.3
23	76.8	53.5	23.3
24	58.9	39.3	19.6

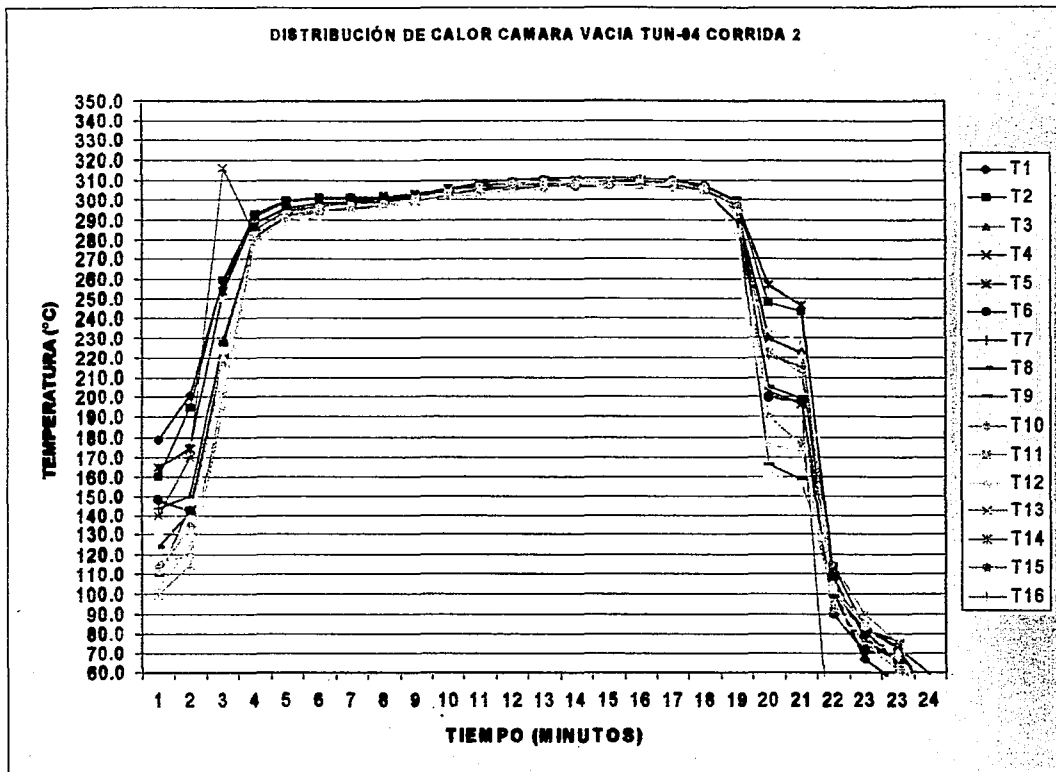


Figura 8. Distribución de calor en cámara vacía TUN-04 corrida 2 de 3

TESIS CON
 FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
1	55.2	40.0	15.2
2	59.7	47.4	12.3
3	88.8	64.2	24.6
4	208.9	149.7	59.2
5	269.8	247.2	22.5
6	282.9	266.9	16.0
7	286.5	272.6	13.9
8	290.3	277.2	13.1
9	293.4	282.6	10.8
10	295.6	285.3	10.3
11	299.9	289.4	10.5
12	302.4	290.8	11.6
13	303.9	293.5	10.4
14	303.4	294.4	8.9
15	303.0	294.9	8.1
16	301.6	295.4	6.3
17	301.0	293.6	7.4
18	299.6	291.7	7.8
19	299.0	290.3	8.7
20	270.4	200.9	69.5
21	216.7	140.6	76.1
22	179.4	131.6	47.8
23	102.7	76.4	26.3
24	82.4	55.9	26.5
25	63.9	49.4	14.5

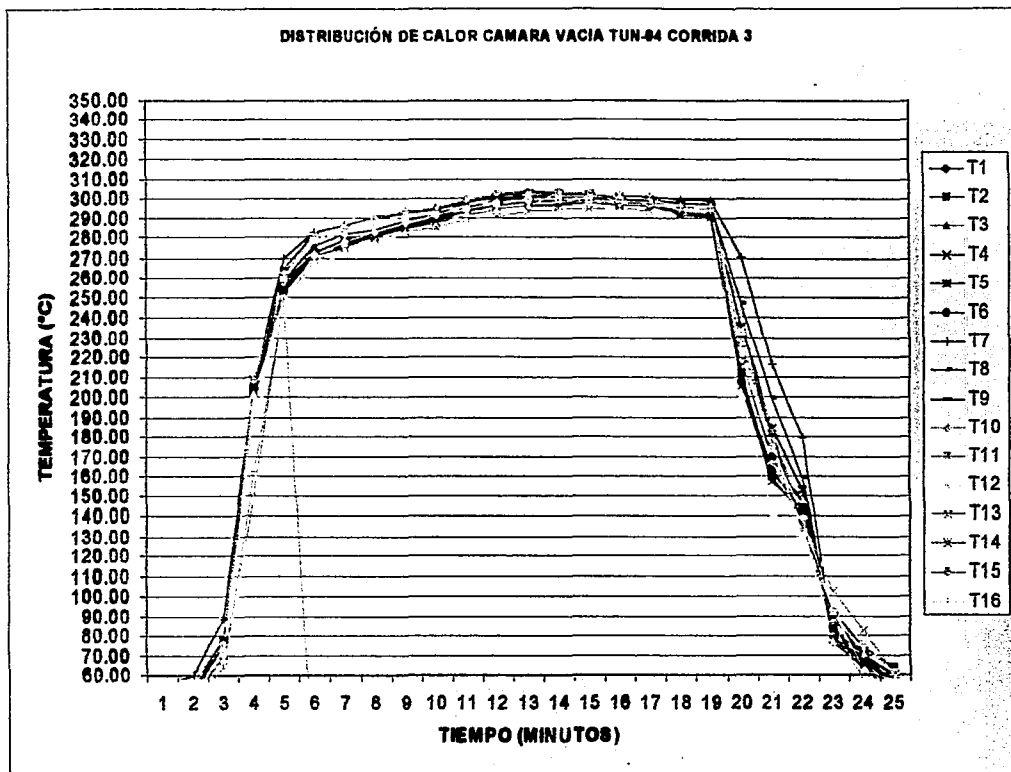


Figura 9. Distribución de calor en cámara vacía TUN-04 corrida 3 de 3

TEMIS CON
FALLA DE ORIGEN

7.3 RESULTADOS CALIFICACIÓN DE DESEMPEÑO (VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DESPIROGENIZACIÓN)

7.3.1 ESTUDIOS DE PENETRACIÓN DE CALOR EN CAMARA CON CARGA

A continuación se presentan los resultados obtenidos en la penetración de calor en cámara con carga, los resultados se encuentran organizados de la siguiente manera:

Corrida 1. Ampolleta 1 mL figuras 10 y 11.

Corrida 2. Ampolleta 1 mL figuras 12 y 13.

Corrida 3. Ampolleta 1 mL figuras 14 y 15.

Corrida 1. Ampolleta 2 mL figuras 16 y 17.

Corrida 2. Ampolleta 2 mL figuras 18 y 19.

Corrida 3. Ampolleta 2 mL figuras 20 y 21.

Corrida 1. Ampolleta 3 mL figuras 22 y 23.

Corrida 2. Ampolleta 3 mL figuras 24 y 25.

Corrida 3. Ampolleta 3 mL figuras 26 y 27.

Tiempo	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	301.30	292.41	8.89
1.0	304.63	295.92	8.71
1.5	305.36	296.90	8.46
2.0	304.07	295.77	8.30
2.5	302.38	294.25	8.13
3.0	300.80	292.76	8.04
3.5	299.75	292.33	7.42
4.0	299.37	292.46	6.91
4.5	299.98	293.42	6.56
5.0	301.47	295.54	5.93
5.5	303.37	298.09	5.28
6.0	305.45	300.21	5.24
6.5	306.28	301.09	5.19
7.0	306.48	301.49	4.99
7.5	306.37	301.49	4.88
8.0	306.00	300.88	5.12
8.5	305.37	299.92	5.45
9.0	304.70	299.29	5.41
9.5	303.96	298.29	5.67
10.0	303.24	297.92	5.32
10.5	300.78	288.13	12.65
11.0	298.83	288.09	10.74
11.5	295.67	274.39	21.28
12.0	282.44	258.48	23.96
12.5	262.90	243.97	18.93
13.0	257.73	237.61	20.12
13.5	265.11	240.76	24.35
14.0	254.43	231.14	23.29
14.5	242.46	218.04	24.42
15.0	229.56	208.09	21.47

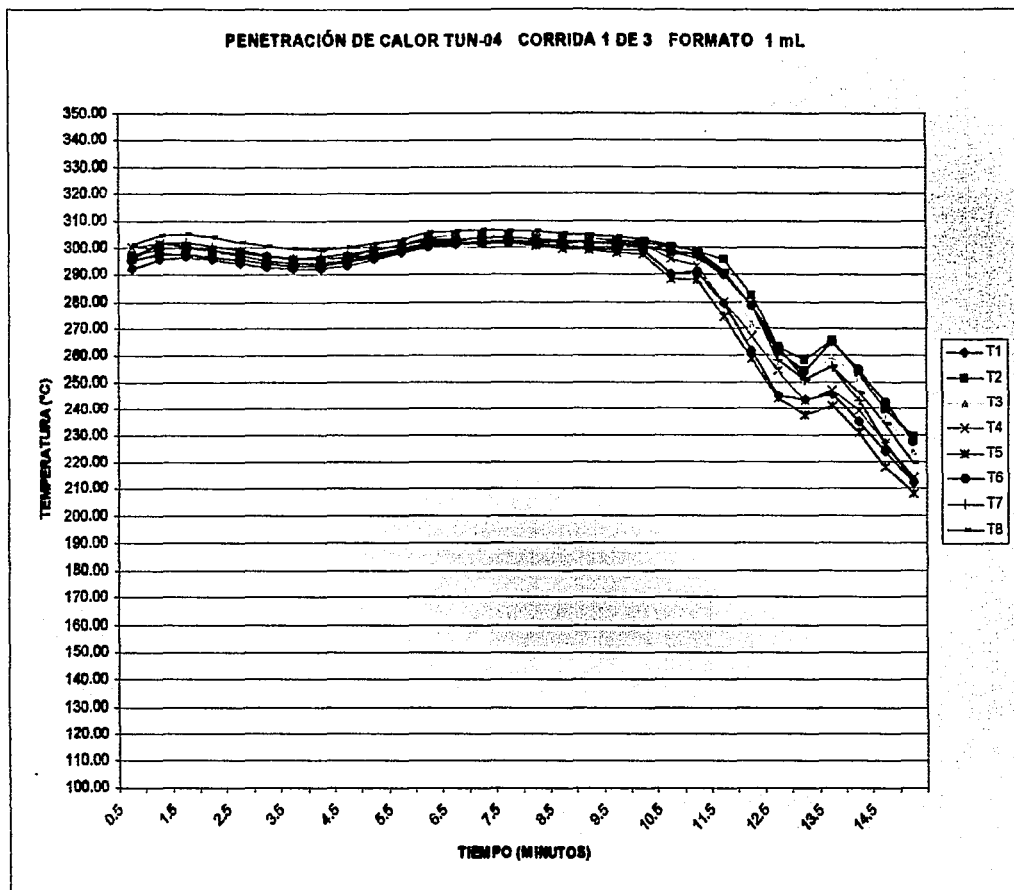


Figura 10. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 1 de 3 penetración de calor formato 1 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	258.67	221.27	37.40
1.0	289.65	250.82	38.83
1.5	299.58	263.02	36.56
2.0	305.36	268.87	36.49
2.5	308.65	267.67	40.98
3.0	310.20	266.29	43.91
3.5	309.15	263.39	45.76
4.0	306.81	262.14	44.67
4.5	304.33	262.29	42.04
5.0	301.85	262.91	38.94
5.5	300.70	265.62	35.08
6.0	300.94	269.52	31.42
6.5	301.75	272.41	29.34
7.0	303.92	275.63	28.29
7.5	306.68	279.84	26.84
8.0	309.59	283.02	26.57
8.5	311.62	285.69	25.93
9.0	313.77	288.63	25.14
9.5	314.53	291.38	23.15
10.0	313.66	291.61	22.05
10.5	311.86	291.61	20.25
11.0	308.28	289.14	19.14
11.5	306.68	290.12	16.56
12.0	303.90	282.25	21.65
12.5	301.03	276.00	25.03
13.0	299.61	273.54	26.07
13.5	297.31	258.87	38.44
14.0	293.22	242.75	50.47
14.5	278.61	229.31	49.30
15.0	244.36	211.63	32.73

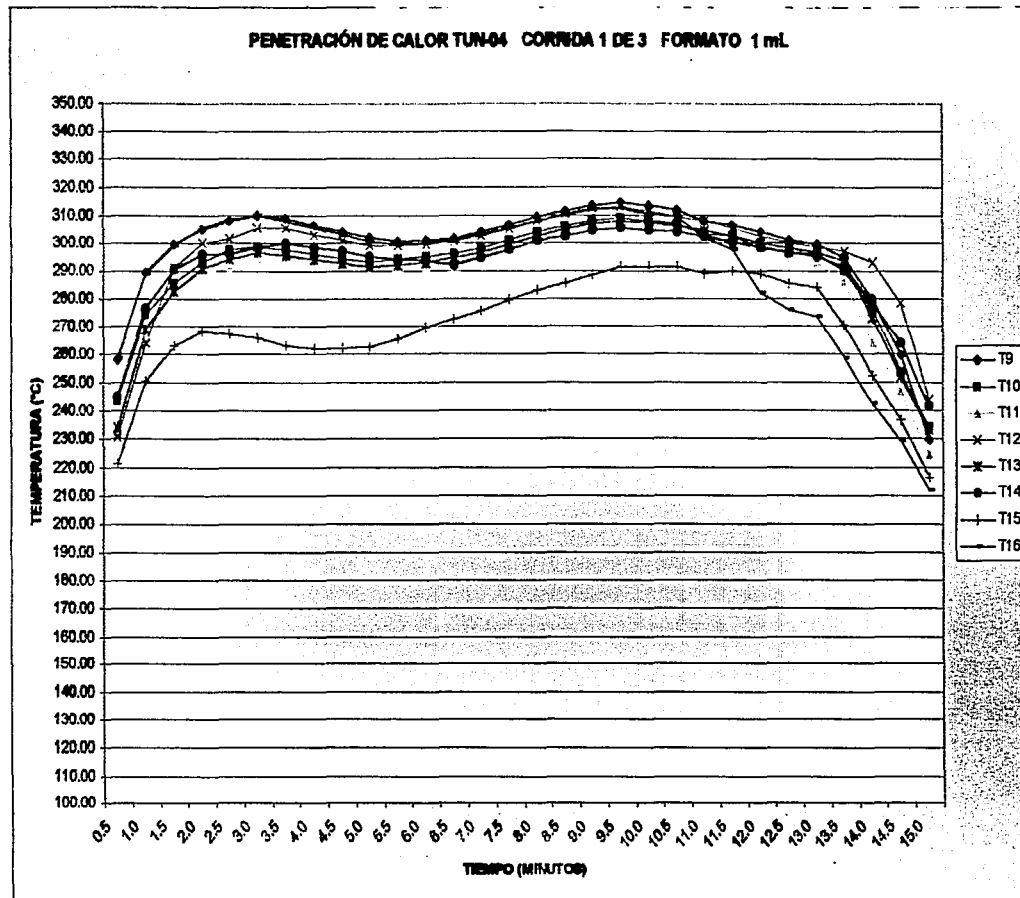


Figura 11. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 1 de 3 penetración de calor formato 1 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	300.56	291.20	9.36
1.0	306.11	296.72	9.39
1.5	307.67	298.53	9.14
2.0	307.75	298.08	9.67
2.5	306.48	297.21	9.27
3.0	305.57	296.78	8.79
3.5	304.79	296.78	8.01
4.0	304.41	297.60	6.81
4.5	304.17	297.97	6.20
5.0	304.39	298.23	6.16
5.5	304.66	298.63	6.03
6.0	304.66	299.29	5.37
6.5	305.46	300.10	5.36
7.0	306.50	301.15	5.35
7.5	306.87	301.74	5.13
8.0	307.44	302.25	5.19
8.5	308.07	302.80	5.27
9.0	308.10	303.03	5.07
9.5	307.24	302.79	4.45
10.0	305.81	301.82	3.99
10.5	303.83	298.14	5.69
11.0	299.90	289.91	9.99
11.5	296.48	275.00	21.48
12.0	284.41	251.68	32.73
12.5	263.87	219.59	44.28
13.0	237.83	183.10	54.73
13.5	203.32	149.12	54.20
14.0	179.37	132.64	46.73
14.5	153.12	120.39	32.73
15.0	150.81	117.22	33.59

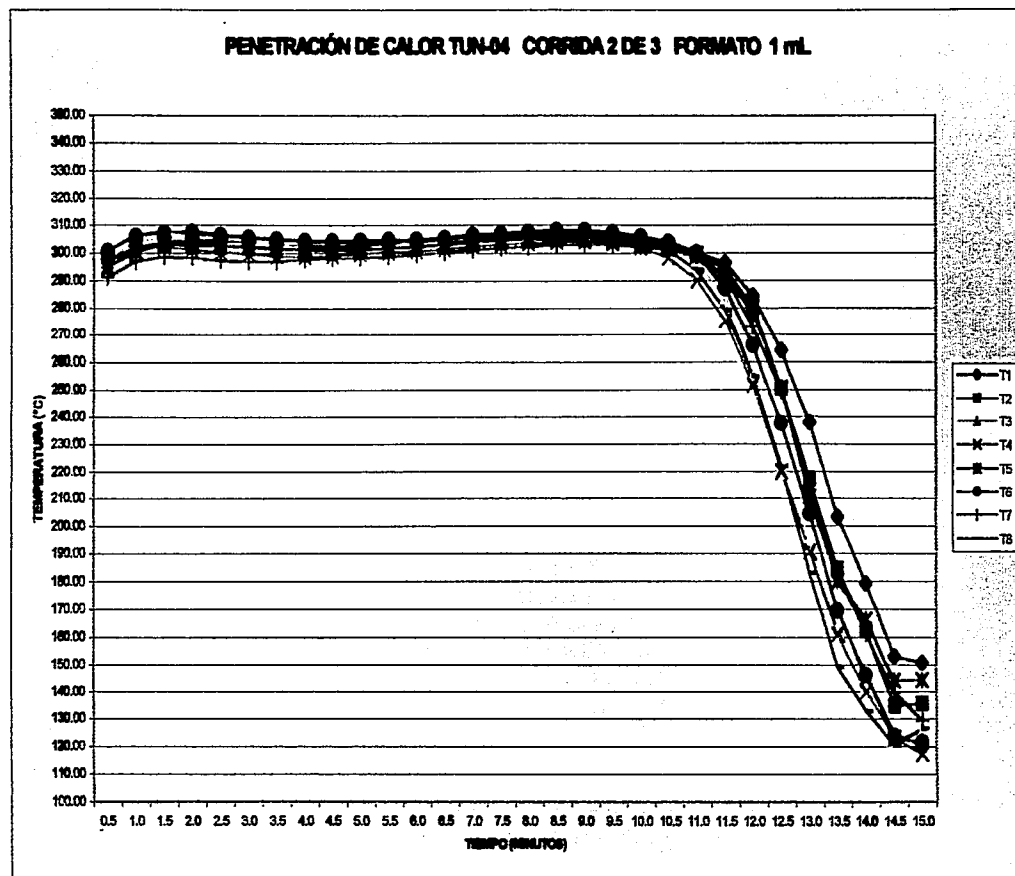


Figura 12. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 2 de 3 penetración de calor formato 1 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
	0.5	259.23	218.33
1.0	269.41	224.16	45.25
1.5	280.53	239.10	41.43
2.0	285.45	247.29	38.16
2.5	288.74	251.81	36.93
3.0	294.57	255.59	38.98
3.5	297.74	259.42	38.32
4.0	298.79	262.98	35.81
4.5	299.02	266.29	32.73
5.0	299.98	268.70	31.28
5.5	300.53	270.80	29.73
6.0	301.52	272.65	28.87
6.5	302.31	274.06	28.25
7.0	303.10	277.11	25.99
7.5	303.90	279.18	24.72
8.0	304.39	281.31	23.08
8.5	305.21	283.04	22.17
9.0	305.74	284.52	21.22
9.5	305.95	285.85	20.10
10.0	306.35	287.61	18.74
10.5	306.77	288.07	18.70
11.0	306.74	288.71	18.03
11.5	306.03	289.52	16.51
12.0	306.19	290.61	15.58
12.5	305.15	291.19	13.96
13.0	304.70	291.92	12.78
13.5	304.13	292.42	11.71
14.0	303.42	292.43	10.99
14.5	301.97	293.07	8.90
15.0	300.80	293.00	7.80

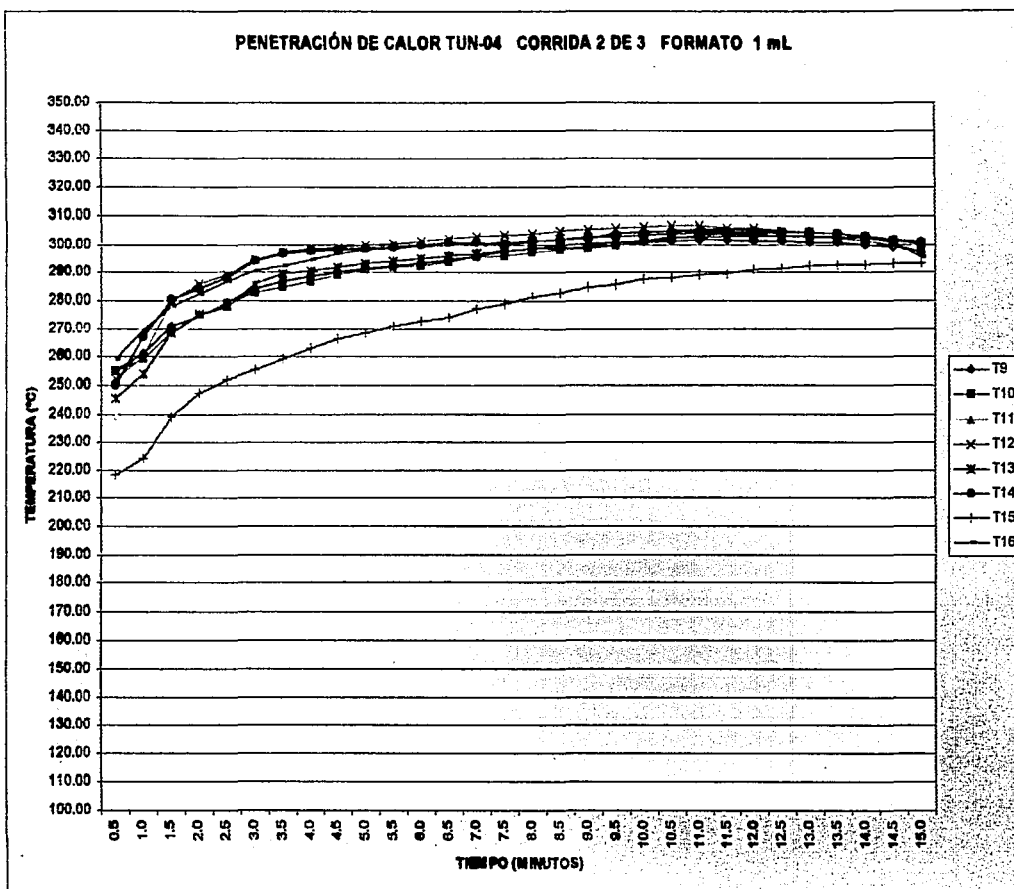


Figura 13. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 2 de 3 penetración de calor formato 1 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
FALLA DE GRUPO

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	295.26	277.40	17.86
1.0	302.02	291.44	10.58
1.5	301.91	292.13	9.78
2.0	299.95	291.08	8.87
2.5	297.98	288.64	9.34
3.0	298.46	288.72	9.74
3.5	300.44	290.56	9.88
4.0	303.01	293.23	9.78
4.5	305.77	296.12	9.65
5.0	308.30	298.74	9.56
5.5	310.06	300.75	9.31
6.0	311.18	303.24	7.94
6.5	311.49	304.38	7.11
7.0	311.07	304.03	7.04
7.5	310.42	302.90	7.52
8.0	309.32	301.77	7.55
8.5	307.74	300.85	6.89
9.0	306.48	300.47	6.01
9.5	305.78	300.46	5.32
10.0	305.54	300.65	4.89
10.5	305.39	300.86	4.53
11.0	305.42	301.08	4.34
11.5	305.80	301.45	4.35
12.0	306.32	301.54	4.78
12.5	307.02	301.73	5.29
13.0	307.63	301.76	5.87
13.5	307.63	299.91	7.72
14.0	305.98	296.95	9.03
14.5	303.57	283.16	20.41
15.0	301.92	278.10	23.82

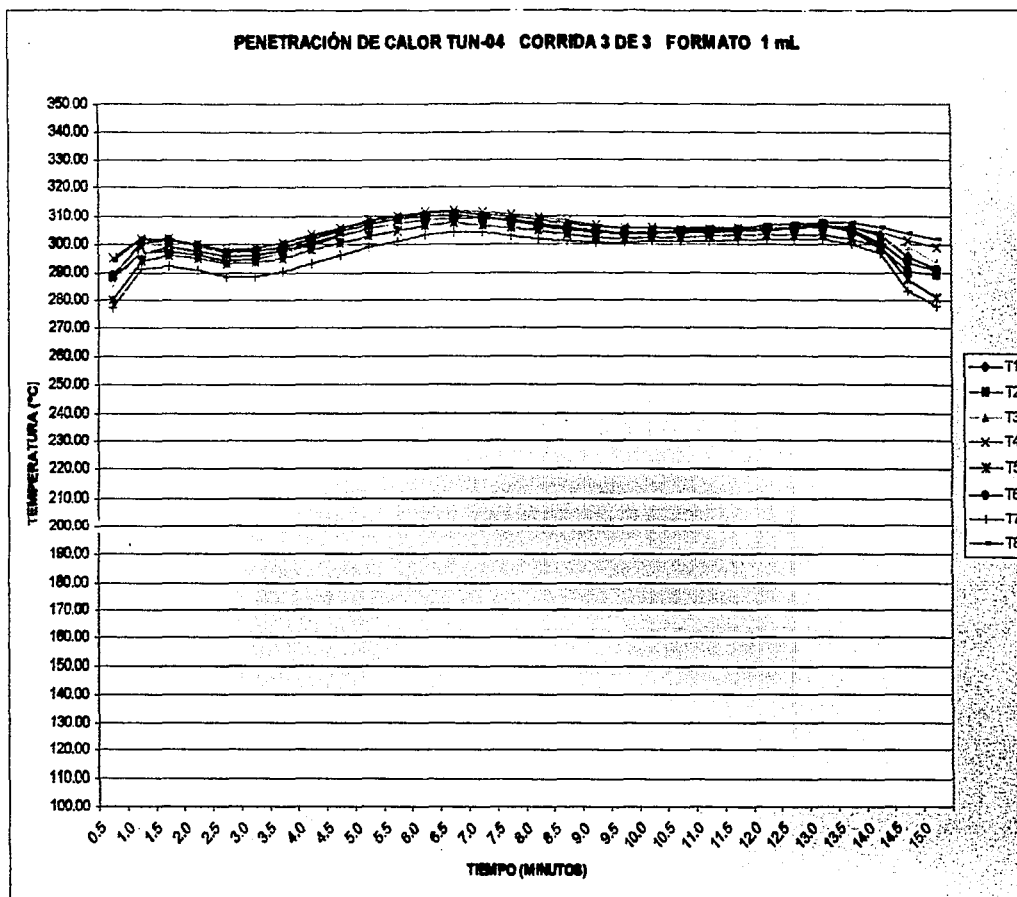


Figura 14. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 3 de 3 penetración de calor formato 1 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

ANÁLISIS CON
FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	269.45	219.54	49.91
1.0	296.97	255.86	41.11
1.5	300.79	258.65	42.14
2.0	304.24	262.20	42.04
2.5	305.26	262.01	43.25
3.0	302.68	260.65	42.03
3.5	302.95	262.86	40.09
4.0	303.58	266.59	36.99
4.5	304.02	270.23	33.79
5.0	305.27	273.04	32.23
5.5	305.52	275.26	30.26
6.0	305.73	277.11	28.62
6.5	306.06	278.57	27.49
7.0	305.99	280.24	25.75
7.5	306.16	281.64	24.52
8.0	306.47	282.48	23.99
8.5	307.99	284.40	23.59
9.0	308.60	285.54	23.06
9.5	309.81	286.38	23.43
10.0	310.32	288.77	21.55
10.5	310.47	289.98	20.49
11.0	309.59	290.65	18.94
11.5	308.24	290.76	17.48
12.0	307.53	291.18	16.35
12.5	306.53	291.54	14.99
13.0	303.46	290.25	13.21
13.5	301.44	288.44	13.00
14.0	297.62	276.23	21.39
14.5	262.21	231.47	30.74
15.0	280.23	227.63	52.60

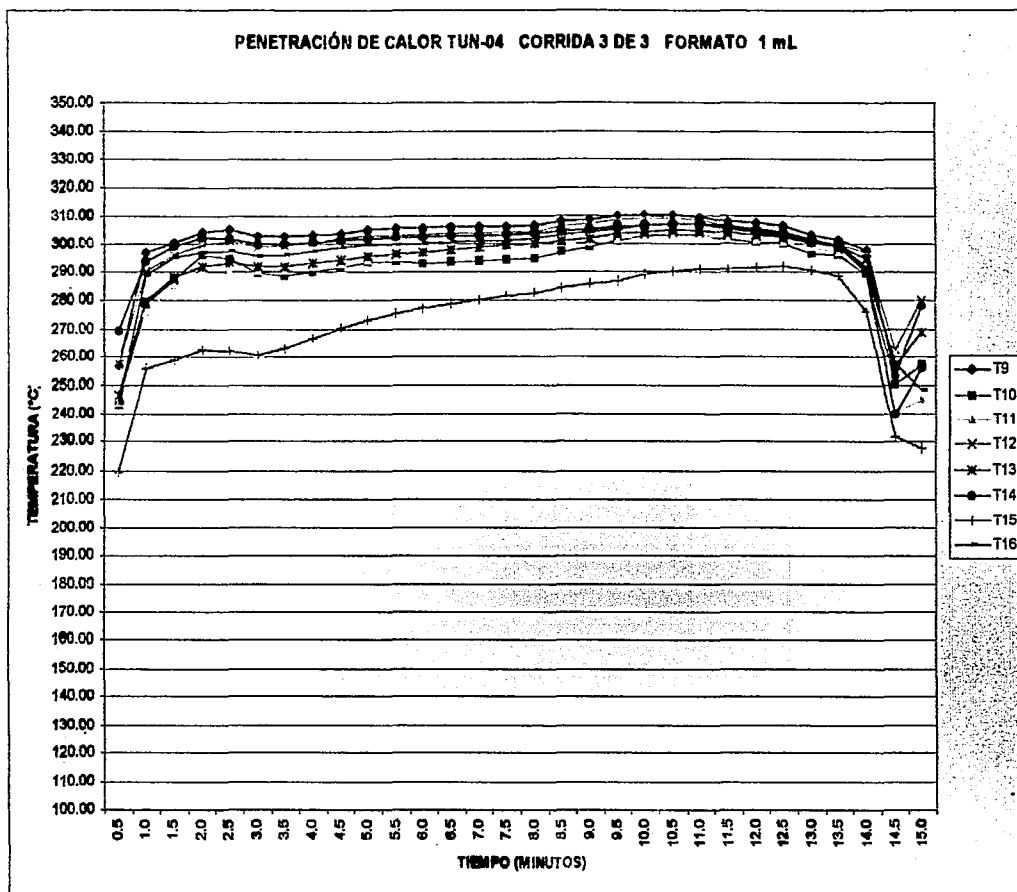
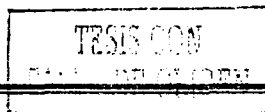


Figura 15. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 3 de 3 penetración de calor formato 1 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.



tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
1.0	286.5	215.0	71.5
2.0	297.8	240.1	57.7
3.0	301.7	254.5	47.2
4.0	306.6	268.6	38.0
5.0	310.4	278.7	31.7
6.0	312.0	285.0	27.0
7.0	312.4	289.6	22.8
8.0	311.5	291.8	19.7
9.0	310.7	293.6	17.1
10.0	309.3	292.5	16.8
11.0	308.4	291.2	17.2
12.0	305.9	291.4	14.5
13.0	302.3	290.0	12.3

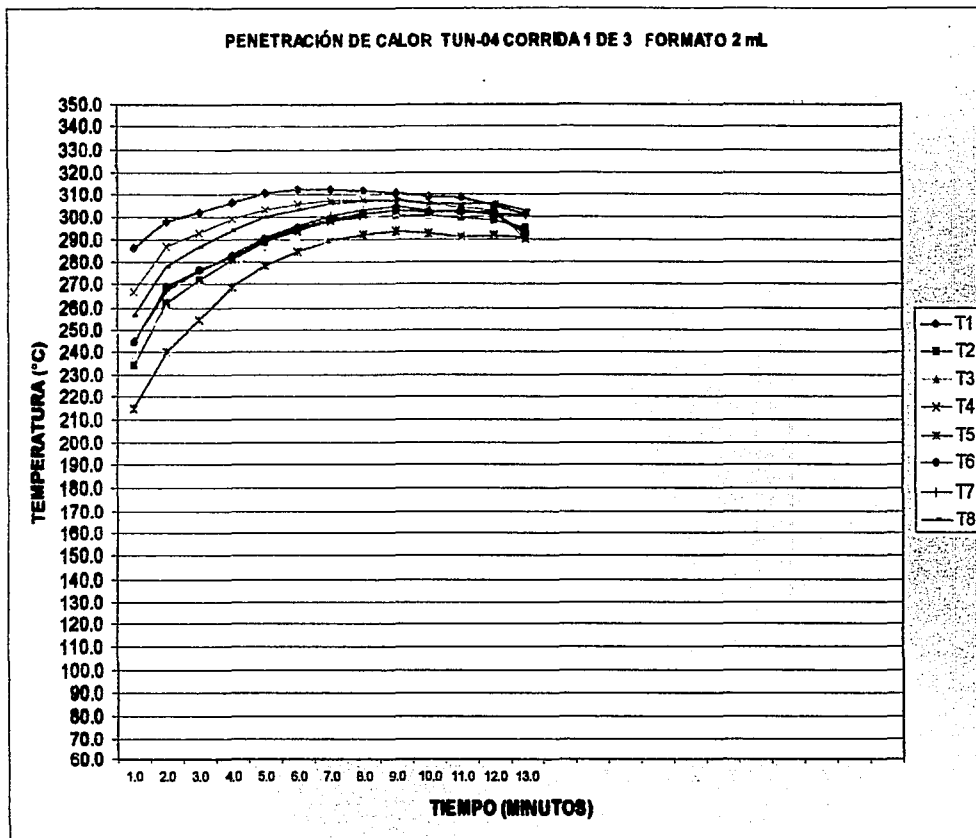


Figura 16. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 1 de 3 penetración de calor formato 2 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
 A LA DE OBTENIR

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
1	301.1	204.5	96.6
2	307.6	235.0	72.6
3	315.2	245.2	70.0
4	312.9	253.2	59.7
5	311.7	259.3	52.4
6	312.9	252.2	60.7
7	311.3	256.2	55.1
8	308.0	243.2	64.8
9	305.8	261.5	44.3
10	310.1	271.1	39.0
11	313.1	270.1	43.0
12	315.5	277.8	37.7
13	316.5	264.0	52.5

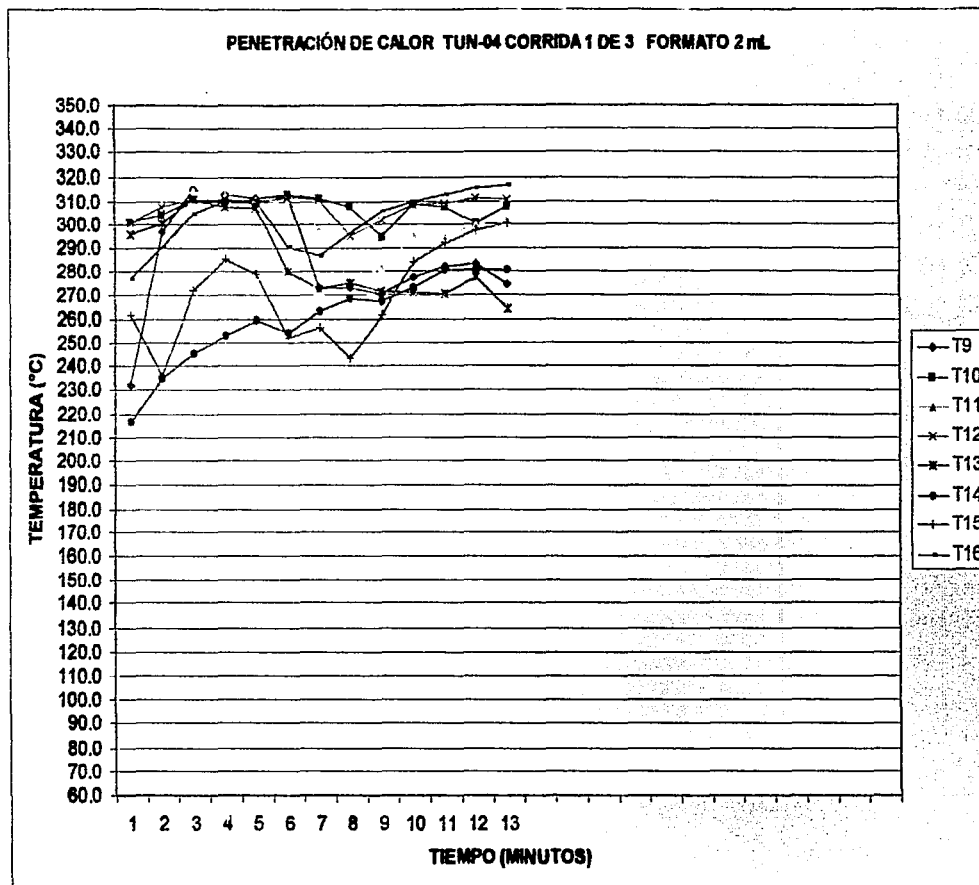


Figura 17. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 1 de 3 penetración de calor formato 2 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
PALLA DE ORO

tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	277.50	264.16	13.34
1.0	283.72	272.11	11.61
1.5	285.96	275.62	10.34
2.0	287.84	277.53	10.31
2.5	290.93	278.41	12.52
3.0	292.52	280.37	12.15
3.5	294.80	282.07	12.73
4.0	294.40	285.63	8.77
4.5	295.22	286.93	8.29
5.0	296.93	288.65	8.28
5.5	297.48	289.51	7.97
6.0	298.25	288.43	9.82
6.5	298.54	288.96	9.58
7.0	297.79	290.61	7.18
7.5	298.57	292.15	6.42
8.0	299.63	293.86	5.77
8.5	300.20	294.85	5.35
9.0	300.47	295.44	5.03
9.5	300.83	296.08	4.75
10.0	301.08	296.52	4.56
10.5	301.27	296.98	4.29
11.0	301.12	297.17	3.95
11.5	300.94	296.97	3.97
12.0	299.71	295.88	3.83
12.5	297.84	293.87	3.97

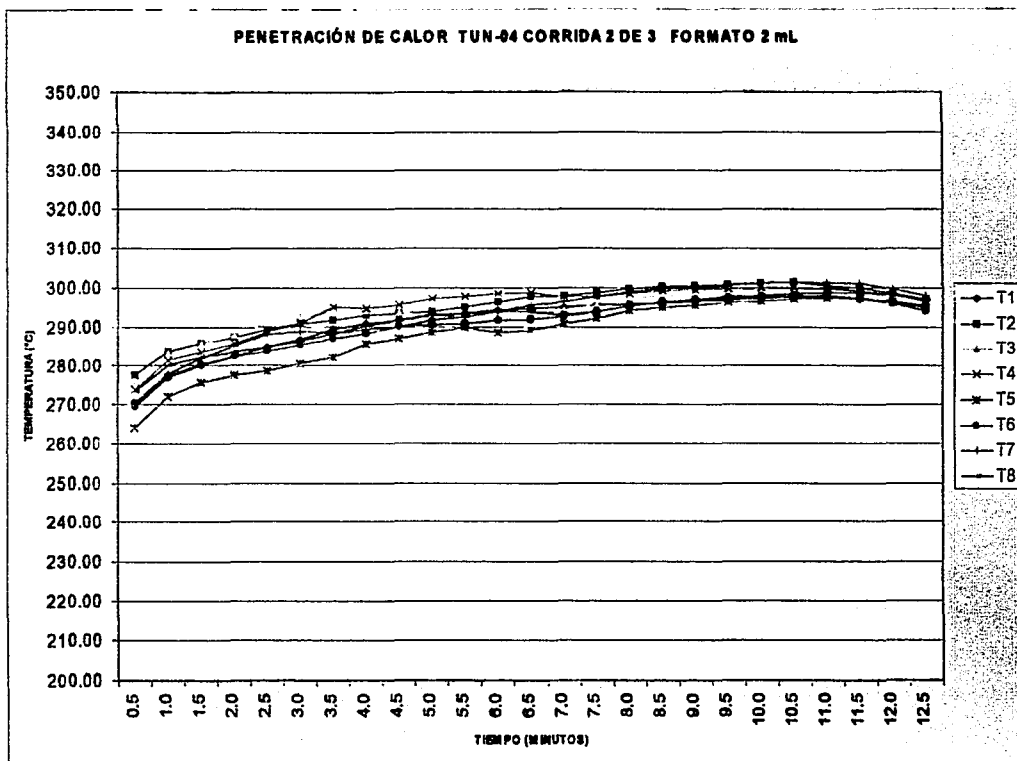


Figura 18. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 2 de 3 penetración de calor formato 2 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TENS CON
FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	228.24	196.85	31.39
1.0	258.26	245.86	12.40
1.5	277.29	259.02	18.27
2.0	287.41	277.39	10.02
2.5	294.14	283.46	10.68
3.0	296.59	286.04	10.55
3.5	296.92	289.97	6.95
4.0	300.82	293.23	7.59
4.5	303.31	295.87	7.44
5.0	304.21	297.75	6.46
5.5	304.77	299.01	5.76
6.0	304.93	299.71	5.22
6.5	305.44	299.83	5.61
7.0	304.60	299.79	4.81
7.5	304.24	299.50	4.74
8.0	303.47	298.92	4.55
8.5	302.94	298.71	4.23
9.0	302.96	298.97	3.99
9.5	303.72	300.04	3.68
10.0	305.61	301.66	3.95
10.5	308.12	302.60	5.52
11.0	307.69	276.53	31.16
11.5	306.48	300.67	5.81
12.0	305.82	292.11	13.71
12.5	296.87	275.12	21.75

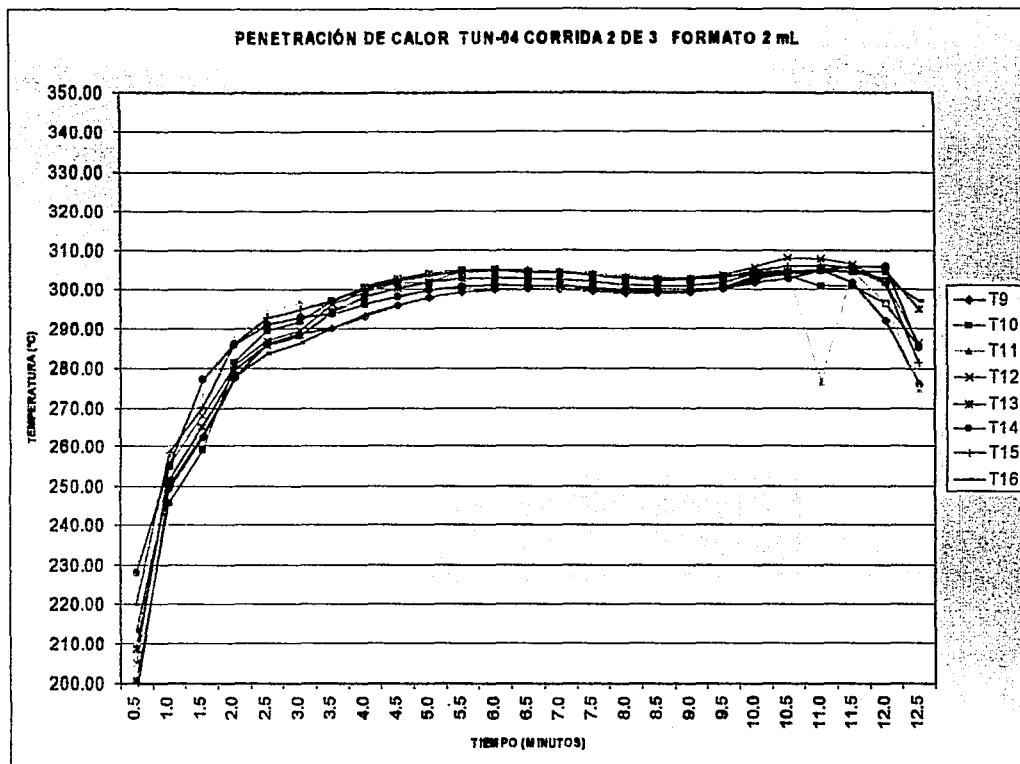


Figura 19. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 2 de 3 penetración de calor formato 2 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
 FALLA DE CUBRIR

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	291.65	276.96	14.69
1.0	296.12	282.54	13.58
1.5	299.40	285.55	13.85
2.0	304.49	287.89	16.60
2.5	305.73	289.83	15.90
3.0	306.21	290.70	15.51
3.5	306.14	291.46	14.68
4.0	305.94	292.16	13.78
4.5	305.47	293.15	12.32
5.0	305.96	293.31	12.65
5.5	306.82	294.43	12.39
6.0	307.54	295.62	11.92
6.5	308.05	296.60	11.45
7.0	308.44	297.45	10.99
7.5	308.99	298.46	10.53
8.0	309.33	299.17	10.16
8.5	309.53	299.84	9.69
9.0	308.40	300.85	7.55
9.5	308.14	301.18	6.96
10.0	308.66	301.44	7.22
10.5	308.81	301.90	6.91
11.0	308.67	301.20	7.47
11.5	308.11	301.34	6.77
12.0	307.50	301.17	6.33
12.5	306.82	300.95	5.87

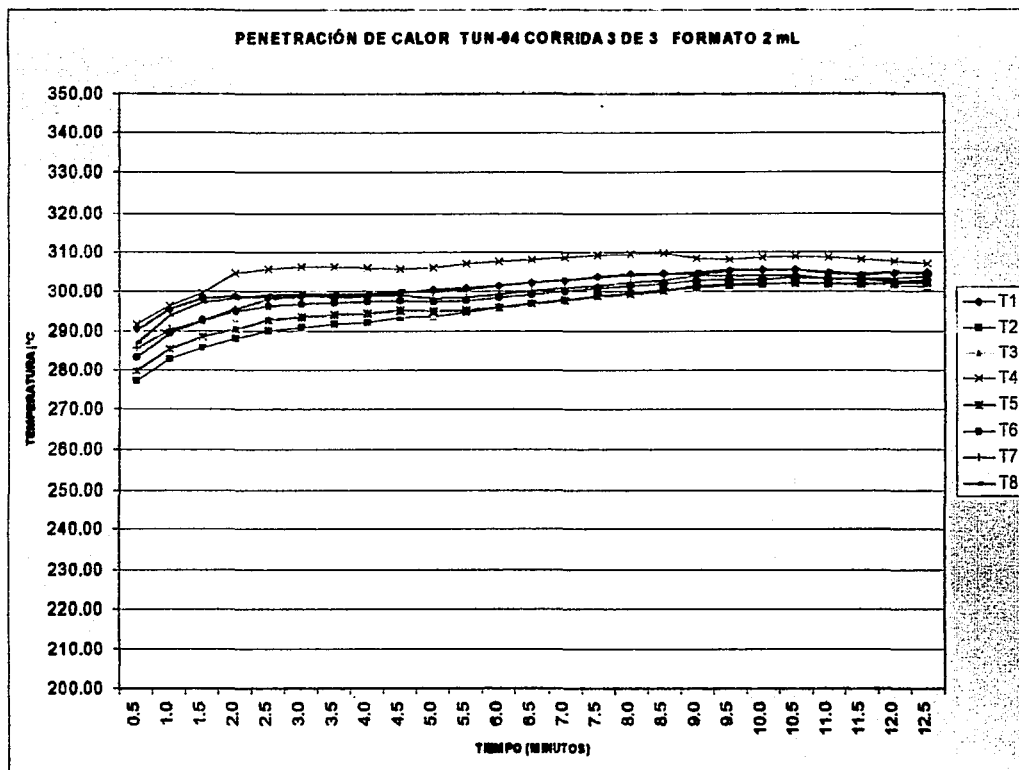


Figura 20. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 3 de 3 penetración de calor formato 2 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	258.40	174.47	83.93
1.0	281.97	213.07	68.90
1.5	291.33	233.54	57.79
2.0	296.01	261.36	34.65
2.5	295.18	243.99	51.19
3.0	297.06	249.92	47.14
3.5	297.82	283.52	14.30
4.0	299.00	285.32	13.68
4.5	300.70	287.58	13.12
5.0	303.03	290.26	12.77
5.5	310.65	293.24	17.41
6.0	318.51	296.19	22.32
6.5	321.44	298.71	22.73
7.0	323.25	300.91	22.34
7.5	326.90	302.32	24.58
8.0	324.87	302.77	22.10
8.5	321.65	303.40	18.25
9.0	318.54	303.31	15.23
9.5	316.57	303.52	13.05
10.0	315.36	303.20	12.16
10.5	309.73	301.76	7.97
11.0	306.07	294.52	11.55
11.5	281.85	234.63	47.22
12.0	248.91	180.62	68.29
12.5	280.35	262.26	18.09

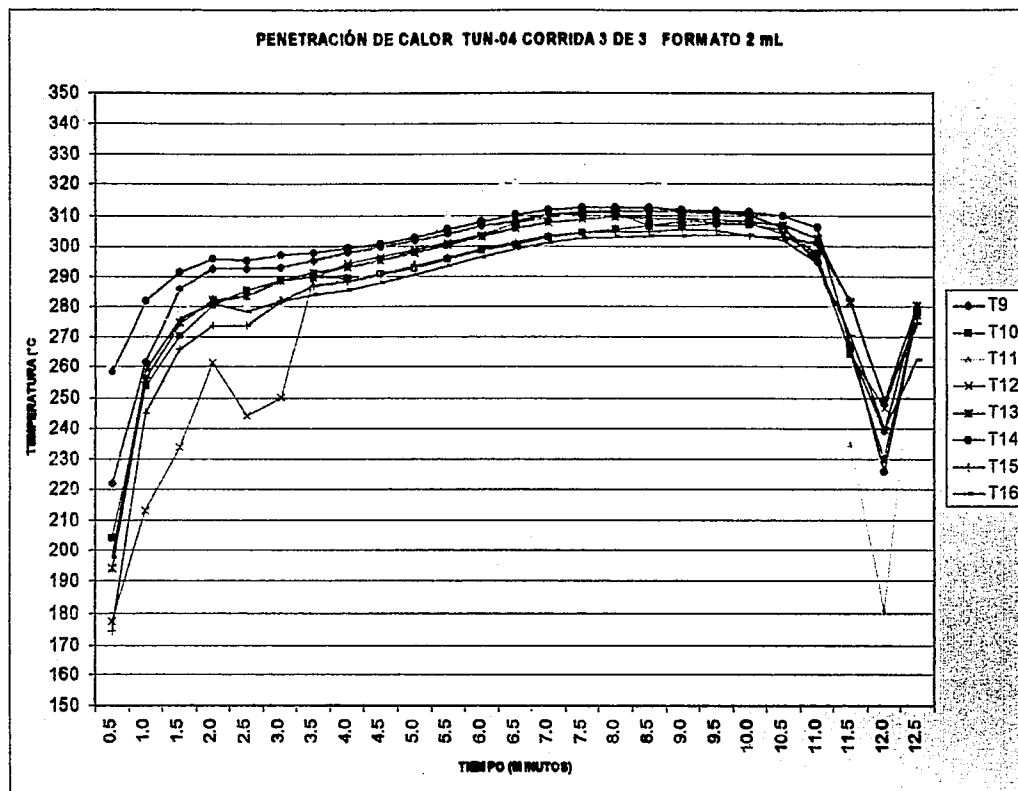


Figura 21. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 3 de 3 penetración de calor formato 2 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

Tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	286.06	259.20	26.86
1.0	293.60	269.14	24.46
1.5	295.45	272.47	22.98
2.0	296.82	275.13	21.69
2.5	331.95	277.08	54.87
3.0	331.32	279.79	51.53
3.5	337.29	281.43	55.86
4.0	299.77	283.41	16.36
4.5	338.93	286.44	52.49
5.0	339.94	288.94	51.00
5.5	335.43	290.26	45.17
6.0	305.28	293.03	12.25
6.5	306.48	295.25	11.23
7.0	307.18	297.43	9.75
7.5	331.74	298.35	33.39
8.0	333.26	297.73	35.53
8.5	330.08	297.07	33.01
9.0	323.91	296.65	27.26
9.5	321.57	295.63	25.94
10.0	321.42	294.65	26.77
10.5	320.46	293.91	26.55
11.0	317.01	293.40	23.61
11.5	312.95	289.98	22.97
12.0	301.60	279.64	21.96
12.5	284.96	229.75	55.21
13.0	264.39	216.15	48.24
13.5	238.88	176.68	62.20
14.0	205.43	146.91	58.52
14.5	144.01	109.53	34.48
15.0	96.42	83.14	13.28

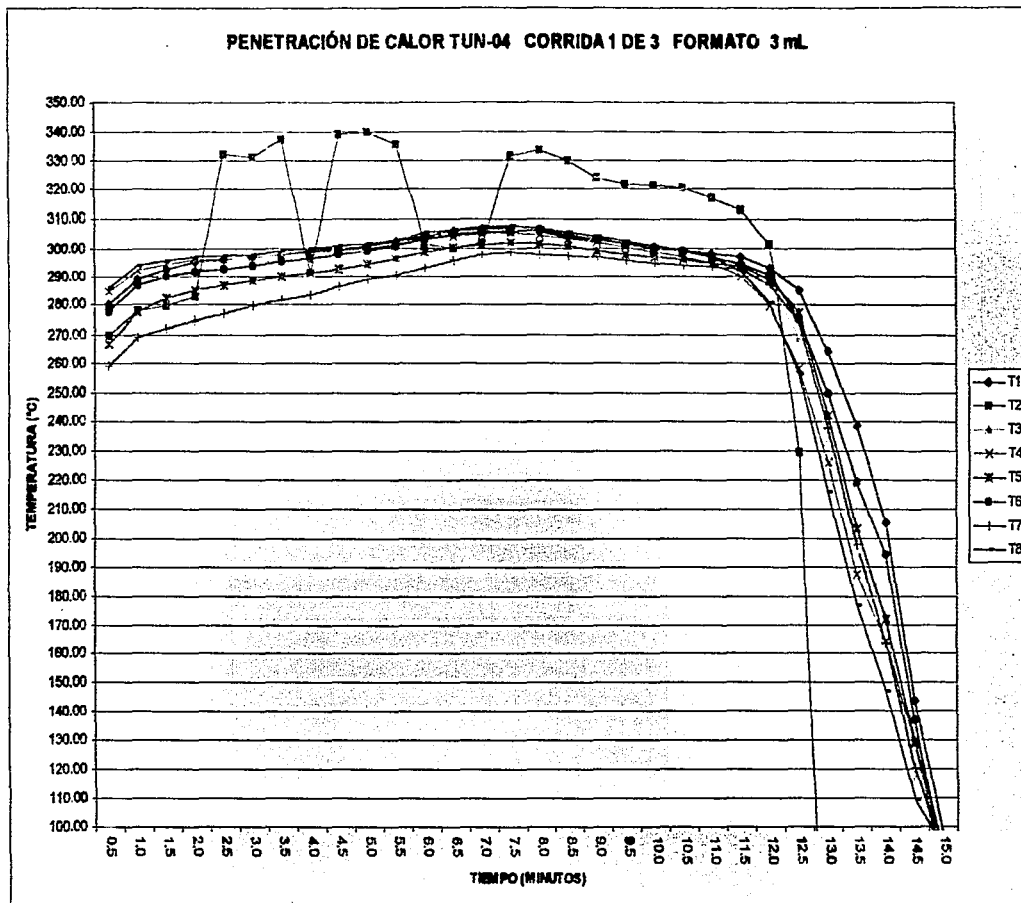


Figura 22. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 1 de 3 penetración de calor formato 3 mL, los Termopares (T1,T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

tiempo (min)			
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	287.11	218.05	69.06
1.0	294.94	227.00	67.94
1.5	302.70	239.28	63.42
2.0	305.26	247.54	57.72
2.5	305.50	252.62	52.88
3.0	304.76	255.57	49.19
3.5	303.81	257.49	46.32
4.0	303.08	259.35	43.73
4.5	302.67	261.38	41.29
5.0	302.60	263.63	38.97
5.5	302.92	265.75	37.17
6.0	303.81	268.07	35.74
6.5	305.65	270.63	35.02
7.0	307.95	273.96	33.99
7.5	310.26	276.48	33.78
8.0	311.72	275.23	36.49
8.5	312.30	279.04	33.26
9.0	312.35	281.82	30.53
9.5	311.39	283.35	28.04
10.0	310.35	283.50	26.85
10.5	309.01	284.26	24.75
11.0	307.36	284.54	22.82
11.5	306.20	285.65	20.55
12.0	303.65	285.15	18.50
12.5	302.34	285.34	17.00
13.0	301.33	286.33	15.00
13.5	300.97	287.76	13.21
14.0	300.80	289.02	11.78
14.5	301.53	290.46	11.07
15.0	302.52	291.82	10.70

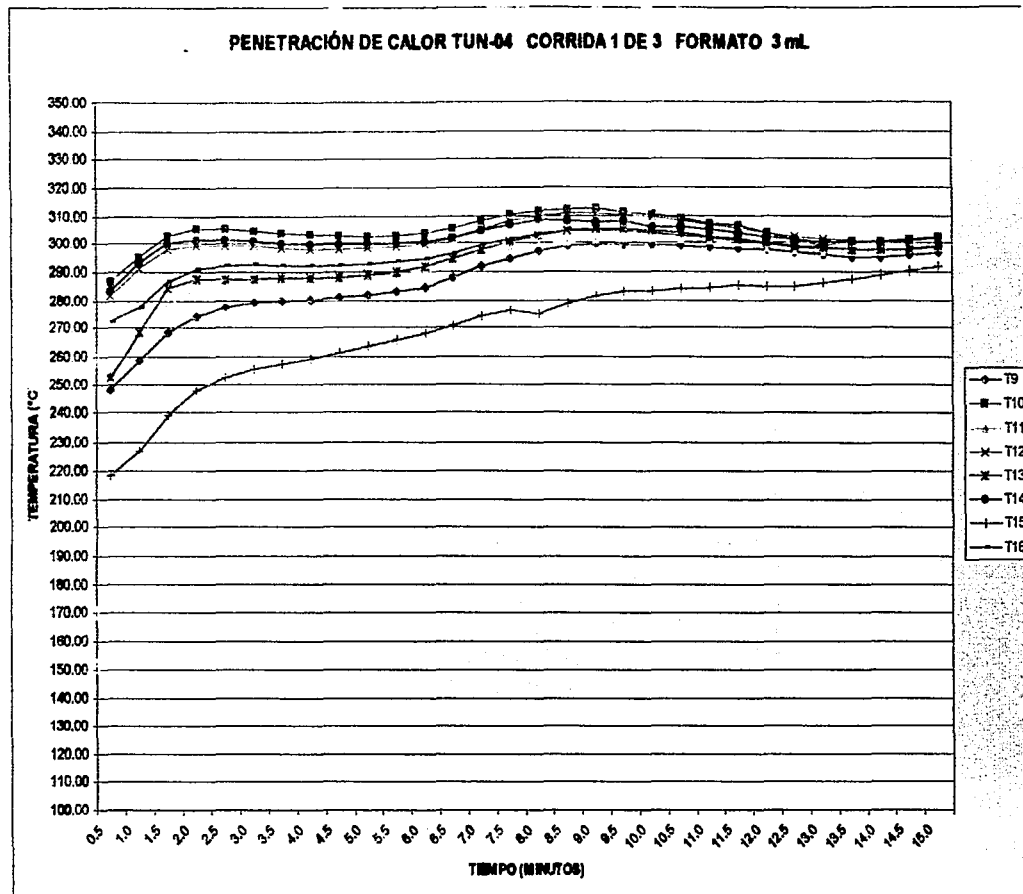
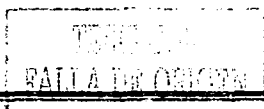


Figura 23. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 1 de 3 penetración de calor formato 3 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.



Tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	280.46	251.62	28.84
1.0	291.15	266.56	24.59
1.5	296.20	272.47	23.73
2.0	300.08	276.20	23.88
2.5	302.96	280.35	22.61
3.0	304.70	283.95	20.75
3.5	305.60	286.01	19.59
4.0	306.24	287.74	18.50
4.5	305.80	289.03	16.77
5.0	305.56	290.74	14.82
5.5	305.40	290.35	15.05
6.0	304.76	290.68	14.08
6.5	304.95	291.82	13.13
7.0	305.13	293.46	11.67
7.5	305.41	294.57	10.84
8.0	305.53	294.85	10.68
8.5	304.17	295.14	9.03
9.0	304.06	295.73	8.33
9.5	303.88	296.04	7.84
10.0	304.40	296.16	8.24
10.5	303.69	295.87	7.82
11.0	302.50	295.60	6.90
11.5	300.69	294.71	5.98
12.0	295.97	283.32	12.65
12.5	283.87	258.11	25.76
13.0	258.49	225.75	32.74
13.5	222.05	193.35	28.70
14.0	200.60	153.38	47.22
14.5	167.51	115.89	51.62
15.0	245.37	217.17	28.20

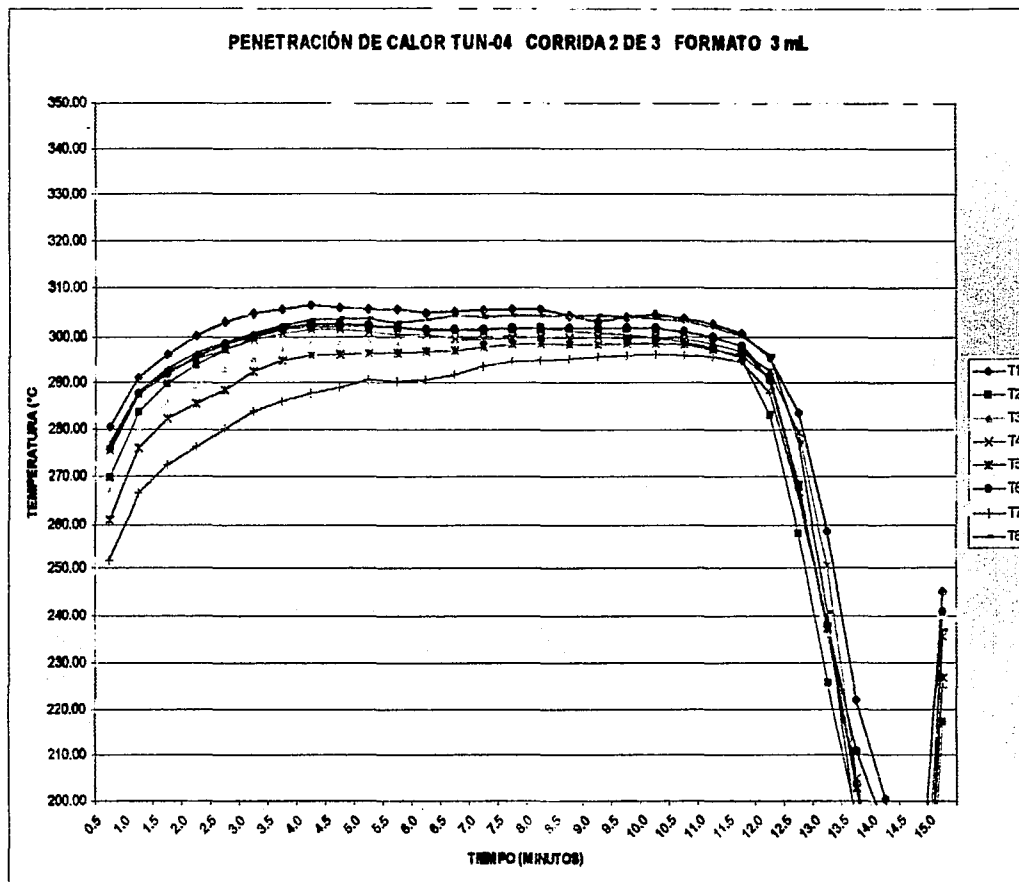


Figura 24. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 2 de 3 penetración de calor formato 3 mL, los Termopares (T1, T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	273.75	201.36	72.39
1.0	281.80	225.63	56.17
1.5	297.03	245.23	51.80
2.0	301.20	250.27	50.93
2.5	301.93	254.65	47.28
3.0	302.18	255.43	46.75
3.5	302.46	258.07	44.39
4.0	303.04	260.65	42.39
4.5	304.17	263.33	40.84
5.0	305.05	266.08	38.97
5.5	306.31	270.30	36.01
6.0	307.21	273.23	33.98
6.5	308.24	275.90	32.34
7.0	309.68	278.55	31.13
7.5	310.14	281.20	28.94
8.0	310.84	283.12	27.72
8.5	310.60	284.67	25.93
9.0	309.62	285.71	23.91
9.5	308.19	286.86	21.33
10.0	307.21	287.91	19.30
10.5	306.35	288.79	17.56
11.0	305.80	289.68	16.12
11.5	305.08	289.56	15.52
12.0	304.00	289.71	14.29
12.5	303.26	290.22	13.04
13.0	302.95	290.91	12.04
13.5	301.69	291.51	10.18
14.0	301.66	292.17	9.49
14.5	301.31	292.54	8.77
15.0	300.02	291.75	8.27

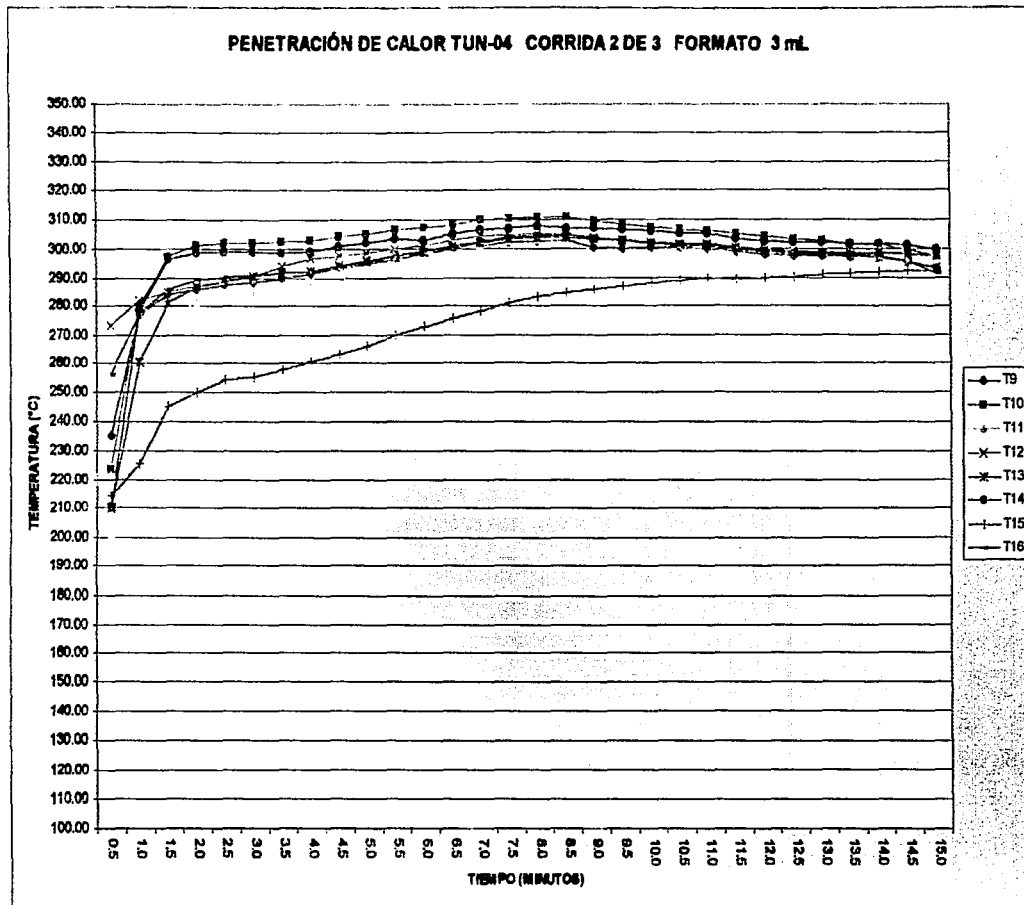


Figura 25. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 2 de 3 penetración de calor formato 3 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

INSTITUTO VENEZOLANO DE INVESTIGACIONES CIENTÍFICAS
 FALTA DE ORIGEN

tiempo (min)	Temperatura (°C)		
	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	283.44	257.33	26.11
1.0	289.19	265.28	23.91
1.5	293.00	269.52	23.48
2.0	296.50	273.33	23.17
2.5	298.97	277.69	21.28
3.0	302.51	281.66	20.85
3.5	305.32	285.08	20.24
4.0	307.07	287.54	19.53
4.5	308.02	289.08	18.94
5.0	308.25	290.51	17.74
5.5	308.76	291.68	17.08
6.0	308.81	292.68	16.13
6.5	307.53	293.48	14.05
7.0	306.50	293.89	12.61
7.5	305.51	293.71	11.80
8.0	305.04	294.05	10.99
8.5	304.77	294.30	10.47
9.0	304.94	294.93	10.01
9.5	304.92	295.40	9.52
10.0	304.87	295.98	8.89
10.5	304.52	296.10	8.42
11.0	302.11	293.48	8.63
11.5	297.73	274.42	23.31
12.0	292.14	257.43	34.71
12.5	280.66	223.25	57.41
13.0	258.06	180.42	77.64
13.5	228.75	149.62	79.13
14.0	226.81	129.77	97.04
14.5	165.42	99.05	66.37
15.0	163.79	106.42	57.37

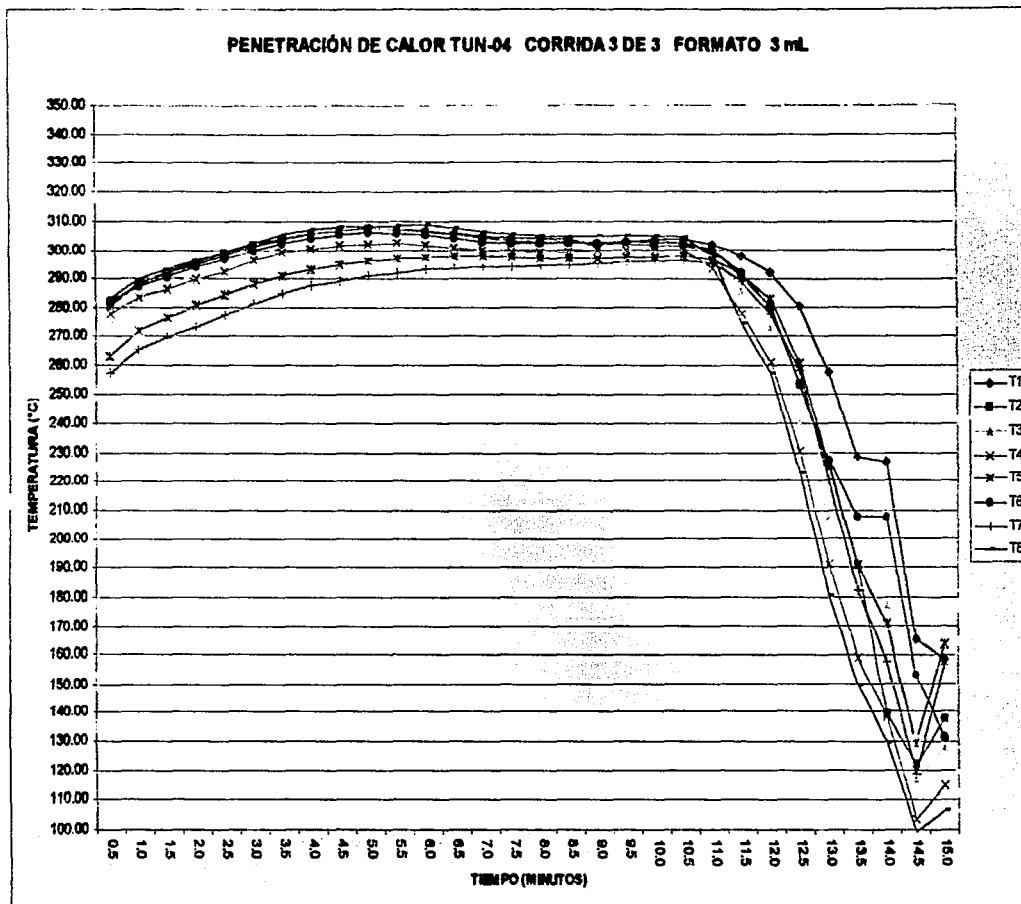


Figura 26. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 3 de 3 penetración de calor formato 3 mL, los Termopares (T1, T5 y T8) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

Tiempo (min)	T Max	T Min	Tmax - Tmin
0.5	302.97	240.90	62.07
1.0	302.59	243.25	59.34
1.5	302.30	247.07	55.23
2.0	301.73	252.86	48.87
2.5	301.02	256.96	44.05
3.0	301.04	258.29	42.75
3.5	301.85	261.30	40.55
4.0	302.72	263.27	39.45
4.5	302.66	266.10	36.56
5.0	303.51	268.39	35.12
5.5	304.59	270.71	33.88
6.0	305.50	273.38	32.12
6.5	306.52	275.52	31.00
7.0	307.77	278.33	29.44
7.5	308.22	280.10	28.12
8.0	307.80	280.99	26.81
8.5	306.89	282.90	23.99
9.0	306.78	284.49	22.29
9.5	305.89	285.78	20.11
10.0	305.39	286.85	18.54
10.5	304.95	287.76	17.19
11.0	304.82	288.70	16.12
11.5	304.76	289.68	15.08
12.0	304.71	290.83	13.88
12.5	303.17	290.02	13.15
13.0	302.13	290.63	11.50
13.5	300.80	290.46	10.34
14.0	299.09	290.70	8.39
14.5	297.12	287.68	9.44
15.0	286.29	256.36	29.93

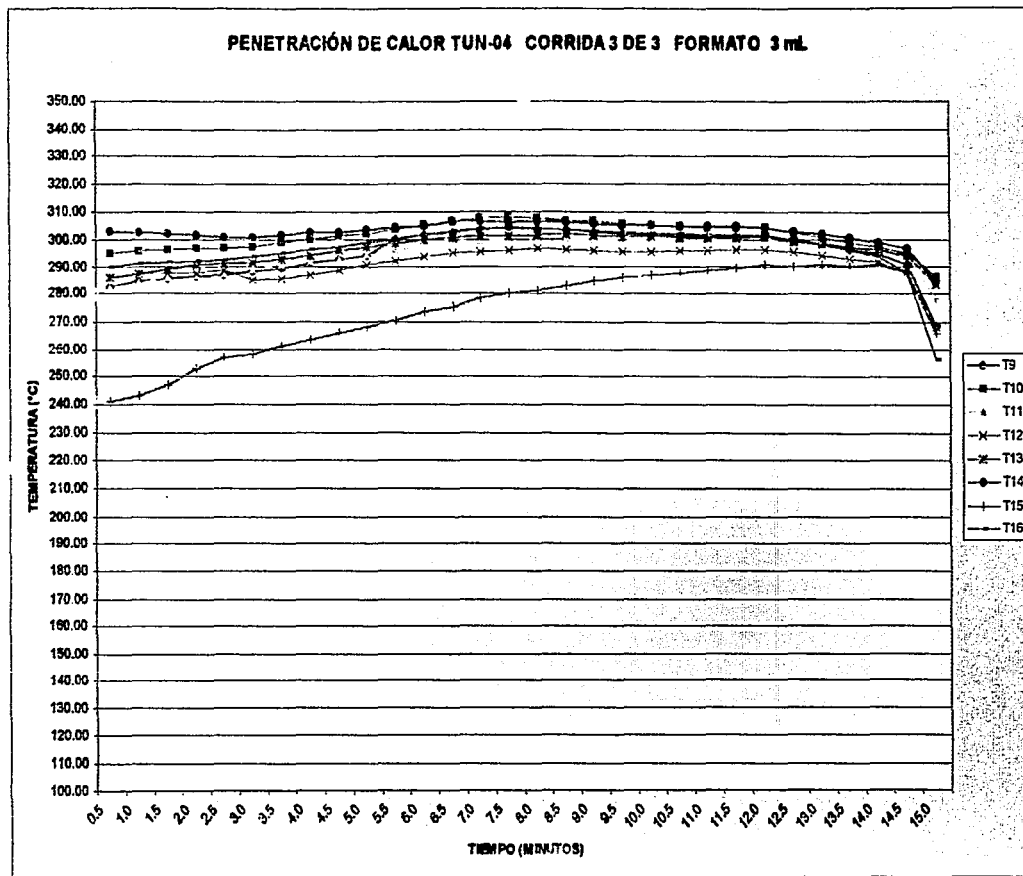


Figura 27. Distribución de calor en cámara con carga TUN-04 corrida 3 de 3 penetración de calor formato 3 mL, los Termopares (T9,T13 y T16) fueron colocados en la parte frontal del túnel (figura 4) y cargados con 10,000 unidades de endotoxina (UE) de *E.coli*.

TESIS COM
 PARRA DE O...

7.3.2 EVALUACIÓN DE LA DESPIROGENIZACIÓN

Tabla 12. Letalidades(F_H) y Prueba LAL, obtenidos en la penetración de calor para ampollas de 1 mL.

Termopar	Letalidad requerida (F_H)	Letalidad Real (F_H)			Prueba LAL		
		Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
1	30	120	172	217	Negativa	Negativa	Negativa
2	30	151	161	211	N/A	N/A	N/A
3	30	148	169	214	N/A	N/A	N/A
4	30	139	141	244	N/A	N/A	N/A
5	30	126	159	188	Negativa	Negativa	Negativa
6	30	135	183	222	N/A	N/A	N/A
7	30	145	137	163	N/A	N/A	N/A
8	30	167	174	247	Negativa	Negativa	Negativa
9	30	223	144	224	Negativa	Negativa	Negativa
10	30	162	144	134	N/A	N/A	N/A
11	30	132	179	140	N/A	N/A	N/A
12	30	200	195	198	N/A	N/A	N/A
13	30	148	156	155	Negativa	Negativa	Negativa
14	30	148	185	191	N/A	N/A	N/A
15	30	57	72	64	N/A	N/A	N/A
16	30	195	174	175	Negativa	Negativa	Negativa

Tabla 13. Letalidades(F_H) y Prueba LAL, obtenidos en la penetración de calor para ampollas de 2 mL.

Termopar	Letalidad requerida (F_H)	Letalidad Real (F_H)			Prueba LAL		
		Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
1	30	221	122	245	Negativa	Negativa	Negativa
2	30	107	133	192	N/A	N/A	N/A
3	30	111	123	204	N/A	N/A	N/A
4	30	163	141	305	N/A	N/A	N/A
5	30	71	107	200	Negativa	Negativa	Negativa
6	30	116	113	211	N/A	N/A	N/A
7	30	126	127	226	N/A	N/A	N/A
8	30	161	123	236	Negativa	Negativa	Negativa
9	30	130	118	172	Negativa	Negativa	Negativa
10	30	247	142	136	N/A	N/A	N/A
11	30	173	145	217	N/A	N/A	N/A
12	30	272	144	136	N/A	N/A	N/A
13	30	113	140	155	Negativa	Negativa	Negativa
14	30	36	133	186	N/A	N/A	N/A
15	30	79	147	125	N/A	N/A	N/A
16	30	245	128	111	Negativa	Negativa	Negativa

Tabla 14. Letalidades(F_H) y Prueba LAL, obtenidos en la penetración de calor para ampollas de 3 mL.

Termopar	Letalidad requerida (F_H)	Letalidad Real (F_H)			Prueba LAL		
		Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3	Corrida 1	Corrida 2	Corrida 3
1	30	149	171	164	Negativa	Negativa	Negativa
2	30	118	134	154	N/A	N/A	N/A
3	30	139	127	135	N/A	N/A	N/A
4	30	138	136	121	N/A	N/A	N/A
5	30	111	112	102	Negativa	Negativa	Negativa
6	30	138	143	149	N/A	N/A	N/A
7	30	89	89	84	N/A	N/A	N/A
8	30	151	157	163	Negativa	Negativa	Negativa
9	30	159	151	161	Negativa	Negativa	Negativa
10	30	292	226	213	N/A	N/A	N/A
11	30	182	155	151	N/A	N/A	N/A
12	30	266	169	130	N/A	N/A	N/A
13	30	198	163	165	Negativa	Negativa	Negativa
14	30	259	211	229	N/A	N/A	N/A
15	30	92	76	65	N/A	N/A	N/A
16	30	206	160	177	Negativa	Negativa	Negativa

8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

Respecto a la calificación de instalación, esta cumplió con lo establecido en el protocolo de calificación, la inspección física del túnel (Tabla 4 pag 72) demostró que todos sus componentes carecen de cualquier daño físico que pudiera generar algún peligro al proceso o al personal, este punto fue acompañado de la inspección de planos eléctricos y mecánicos, ya que con estos se verificó la concordancia entre lo indicado en los planos y lo físicamente instalado.

Así mismo, se cuenta con procedimientos normalizados de operación (PNO's) que establecen por escrito la operación, limpieza y mantenimiento del equipo, cabe señalar que este es un punto de riguroso cumplimiento en las BPF, tal como lo establece la NOM-059 en el punto 10.3.3 "Deben existir PNO's de limpieza y mantenimiento escritos y aplicarse para la limpieza y mantenimiento del equipo y utensilios usados durante la producción, envasado o manejo del producto".

Dos puntos importantes calificados en la instalación del túnel fueron: la instrumentación (Tabla 6 pag 74) y los servicios de energía eléctrica y agua de enfriamiento (Tabla 8 pag 75) ambos cumplieron satisfactoriamente. Cabe recalcar la importancia de contar con instrumentos calibrados y además de que estos estén incluidos en un programa de calibración, ya que de lo contrario no se tendría la seguridad de mantener la consistencia en el proceso de despirogenización; por

ejemplo, imaginemos el trabajar con sensores de temperatura, los cuales no están calibrados, sin duda sería un factor de alto impacto en el proceso.

En los párrafos anteriores se han analizado los resultados de manera que estos tienen un impacto directo sobre la calidad, y de alguna manera puede parecer que calificar es sinónimo de mejorar y garantizar la calidad, lo anterior es cierto, pero también es una herramienta que ayuda a mejorar la productividad; por ejemplo, en la calificación de la instalación se ha garantizado que existe una lista de refacciones y lubricantes (Tabla 7 pag 74), los cuales se encuentran en el almacén, lo anterior permite tener la seguridad de que en cualquier momento en que se detecte una falla en el túnel, (por ejemplo que las resistencias de calentamiento se han dañado) se cuente con una refacción para solucionar el problema y por consecuencia el tiempo perdido en producción por paro del equipo se vea disminuido al mínimo, lo cual aumenta considerablemente la productividad.

Referente a la calificación de operación, las pruebas establecidas para la verificación de funciones y alarmas (Tabla 9 pag 75) cumplieron con lo especificado en el protocolo, lo anterior da la seguridad de que el sistema de control en proceso (sensores y sus respectivas alarmas) funciona adecuadamente, lo que minimiza la posibilidad de trabajar con parámetros fuera de especificación que afecten al proceso de despirogenización. Cabe remarcar la importancia de este punto, ya que en este se han verificado las funciones y alarmas que son ocupadas en la operación día a día del equipo, y que son aquellas que deben aparecer por escrito en las ordenes

maestras de fabricación, por ejemplo, velocidad de la banda transportadora y temperatura de despirogenización.

Otro factor de impacto directo en el proceso de despirogenización es la calidad del aire suministrado por los filtros HEPA. En el presente trabajo se garantizó la calidad del aire con las pruebas de integridad (Figura 6 pag 78, Tabla 10 pag 79), conteo de partículas y flujo de aire (figura 5, tabla 11). La tabla 10 muestra los valores cuantificados de EMERY 3004 en la superficie y marco de los filtros HEPA, se observa que el valor máximo encontrado fue de 0.0011% correspondiente al filtro instalado en la cámara de calentamiento, siendo el límite máximo permitido 0.01%. Lo anterior garantiza que los filtros instalados tienen una eficiencia mínima del 99.9989%, lo que significa que el 99.9989% de partículas de 0.3 micras y mayores quedarán retenidas por los filtros.

Respecto a las pruebas de velocidad de aire en los filtros HEPA instalados en el túnel (fig. 5 pag 77) la NOM-059 establece una velocidad de flujo de $27 \text{ m/min} \pm 20\%$ ($0.45 \text{ m/s} \pm 20\%$), lo anterior no se presentó en el caso de los filtros del túnel, los cuales presentaron velocidades de flujo mayores a lo establecido en primer punto por la norma antes mencionada, tal y como se muestra a continuación:

Velocidades de Aire en los Filtros HEPA (m/s)					
Filtro Cámara de Alimentación		Filtro Cámara de Calentamiento		Filtro Cámara de Enfriamiento	
Lectura 1	0.65	Lectura 1	1.25	Lectura 1	0.60
Lectura 2	0.68	Lectura 2	1.29	Lectura 2	0.60
Lectura 3	0.63	Lectura 3	1.27	Lectura 3	0.62
Lectura 4	0.65	Lectura 4	1.30	Lectura 4	0.61
Lectura 5	0.66	Lectura 5	1.25	Lectura 5	0.64
Lectura 6	0.67	Lectura 6	1.33	Lectura 6	0.62
Promedio	0.66	Promedio	1.28	Promedio	0.62
DESV. EST	0.02	DESV. EST	0.03	DESV. EST	0.02
% CV	2.67	% CV	2.44	% CV	2.47

Tabla 15. Velocidades de Aire en los Filtros HEPA (m/s). "Discusión de resultados"

La tabla 15, muestra que las velocidades de flujo de aire rebasan lo establecido en primer punto por la NOM-059 y que la velocidad es bastante homogénea, al obtener coeficientes de variación menores al 3%, siendo el máximo permitido 20%. Lo anterior no es una causa para pensar que se trabajó fuera de especificaciones, ya que como la misma norma (así como el fabricante del túnel) lo establecen, estas velocidades pueden ser mayores, textualmente la norma 059 indica "mayor cuando las características del producto, proceso o área, lo requiera". Punto importante a considerar, es que cuando las velocidades de flujo de aire aumentan, debe considerarse el efecto en el conteo total de partículas y el efecto en la distribución de calor en la cámara de despirogenización. Para responder esta pregunta, a continuación se analizan los resultados obtenidos en estos dos puntos.

Los resultados obtenidos para la prueba de conteo de partículas (Tabla 11, pag 81) demuestran el cumplimiento del criterio establecido en la NOM-059 para clase 100, (máximo 3,530 de 0.5 micras) ya que el valor máximo encontrado fue de 34 partículas, correspondiente al marco del filtro HEPA instalado en la cámara de enfriamiento.

En los estudios de distribución de calor en cámara vacía (figuras 7 a 9), se observan variaciones menores a los 15 °C ($T_{max}-T_{min}$) una vez que los termopares se encuentran dentro de la zona de despirogenización (aproximadamente entre los 7-19 minutos de los gráficos reportados). La figura 7 pag 83 muestra al termopar número 4 con temperaturas superiores al resto de los termopares, lo anterior fue debido a que es común en este tipo de estudios que algún termopar se mueva de su posición original, lo que provocó que regularmente éste se sobrecaliente al acercarse más a las resistencias de calentamiento. Se descartó un mal funcionamiento del termopar 4, ya que en las corridas 2 y 3 (figuras 8 y 9) éste se comportó de la misma forma que los restantes 15 termopares.

Recapitulando, los resultados obtenidos para el conteo de partículas y la distribución de calor en cámara vacía demuestran que las velocidades de flujo de aire de los filtros HEPA no perjudican al proceso de despirogenización.

En la calificación de desempeño por su parte, se demostró que los formatos (ampolletas de 1,2 y 3 mL) los cuales se trabajan en el túnel, cumplieron con los parámetros termodinámicos y microbiológicos establecidos en el protocolo de calificación.

De lo anterior se destacan algunas consideraciones: Primeramente, pensando en un proceso normal de fabricación, las ampolletas comienzan su ingreso hacia el túnel a medida de que la lavadora de ampolletas lo alimenta, de manera que siempre existe una primera fila de ampolletas que queda expuesta a la entrada del aire que proviene del filtro de la cámara de salida y del propio aire que proviene del cuarto de llenado; de igual manera, al término del proceso de lavado siempre existe una última fila de ampolletas que queda expuesta a la entrada de aire del cuarto de lavado y del aire del filtro de la cámara de entrada, considerando los dos puntos anteriores como el "peor caso" se colocaron termopares y ampolletas con 10,000 unidades de endotoxina de *E.coli* en las primeras ampolletas del frente del túnel, así como en la última fila, a continuación se discute el comportamiento termodinámico.

	Ampolleta 1 mL	Ampolleta 2 mL	Ampolleta 3 mL
corrida 1	288 - 306	280 - 312	280 - 308
corrida 2	260 - 308	260 - 300	260 - 305
corrida 3	260 - 311	276 - 301	260 - 308

Tabla 16. Rangos de temperatura obtenidos durante las corridas de penetración de calor (figuras 10,12-16,18-22,24-27).

La tabla 16 muestra los rangos de temperatura obtenidos en los estudios de penetración de calor (figuras 10,12-16,18-22,24-27) en dichas figuras se observa un comportamiento termodinámico semejante, es decir, a medida que los termopares ingresan a la cámara de calentamiento del túnel, la temperatura comienza a aumentar hasta valores cercanos a los 310 °C. A medida que los termopares acarreados por la banda transportadora del túnel comienzan su salida hacia la cámara de enfriamiento, la temperatura comienza a descender hasta alcanzar el equilibrio térmico de la cámara de enfriamiento, por lo general 25°C. Punto importante que se observa en las figuras mencionadas (excepto figura 22), es que los diferenciales de temperatura obtenidos se encuentran alrededor de los 5°C en la parte central de los gráficos, momento en el cual los termopares se encuentran aproximadamente en la parte media de la cámara de calentamiento. Para el caso de la figura 22 termopar 2, sucedió lo comentado anteriormente para el termopar número 4, el cual presentó temperaturas superiores al resto de los termopares durante la corrida 1 de distribución de calor, es decir, este se movió de su posición original, lo que provocó que se sobrecalentara al acercarse más a las resistencias de calentamiento.

Un segundo “**peor caso**” es pensar que las ampollitas de la última fila salieran de la cámara de despirogenización sin que la mampara de la zona de alimentación fuese cerrada, se evaluó el efecto de mantener la mampara abierta en la primera corrida de cada formato (figuras 11, 17 y 23), en estas figuras se observa claramente la

diferencia observada en la tabla 16, ya que las temperaturas oscilan entre los 220-310 °C, en la tabla 16 se observa que las temperaturas oscilan entre los 260 y 308 °C por lo que al mantener la mampara abierta la temperatura se abate alrededor de 40 °C, no obstante tal diferencia de temperatura, se obtienen resultados satisfactorios, aun así es recomendable que la mampara de la zona de alimentación al finalizar el lavado sea cerrada, ya que la eficacia del proceso de despirogenización aumenta considerablemente.

Lo anteriormente expuesto demuestra de una manera experimental la eficiencia del proceso de despirogenización, pero termodinámicamente ¿Cómo se justifica tal eficiencia?. Para responder tal cuestionamiento es necesario cuantificar el impacto de un valor específico de temperatura en términos de F_H .

Considerando que el F_H puntual está definido por:

$$F_H = \Delta t \sum 10^{(T-T_0)/Z}$$

Donde:

Δt = 1 minuto de exposición a la temperatura T

T = Temperatura de exposición en °C

T_0 = Temperatura base de despirogenización 250°C

Z = 46.4

Aplicando la ecuación anterior, analicemos el efecto del incremento de temperatura en el valor de F_H .

Temperatura de exposición (°C)	F_H
250	1.00
260	1.64
270	2.70
280	4.43
290	7.28
300	11.96
305	15.32
310	19.64
320	32.26

Tabla 17. Efecto de la temperatura en el valor de F_H considerando un minuto de exposición.

La tabla anterior muestra que para alcanzar el F_H de 30 son necesarios 30 minutos de exposición a 250°C, 11 minutos a 270°C, 3 minutos a 300°C y 1 minuto a 320°C.

Los resultados obtenidos para la distribución de temperatura en el proceso de despirogenización de ampollas de 1, 2 y 3 mL (figuras 10-27) demuestran que la mayoría de los termopares permanecen por lo menos cerca de 10 minutos en el interior de la cámara de calentamiento, y algunos minutos por arriba de los 300°C, por lo que fácilmente alcanzan valores de F_H superiores a 30. Lo anterior demuestra la eficiencia del proceso de despirogenización.

Lo anterior pone en manifiesto que la eficacia del proceso depende del tiempo de exposición de las ampollas al calor dentro de la cámara. Considerando que el tiempo de exposición está en función de la velocidad de la banda transportadora del túnel, entonces la velocidad de la banda es un factor clave que debe ser

debe ser considerado. Al respecto cabe mencionar que todas las corridas realizadas en el presente trabajo fueron evaluadas a la máxima velocidad de lavado de ampollas (18,000 ampollas/h) lo que permite trabajar a una velocidad de banda superior a la velocidad normal de operación, de lo cual se asume que si a una velocidad mayor las corridas cumplieron satisfactoriamente, a velocidades menores el proceso de despirogenización se favorece.

En las tablas 12-14 se observa que termodinámicamente todas las letalidades resultaron por arriba de la mínima ($F_H=30$) y que en todos los puntos de reto donde fueron colocadas 10,000 UE de *E.coli* fueron eliminadas, con lo que se aseguró la eliminación de 4 logaritmos, uno más del mínimo requerido e indicado en la USP 24. Por lo anterior, la calificación de desempeño cumplió con lo establecido en el protocolo de calificación y queda validado el proceso de despirogenización utilizado en el túnel.

9. CONCLUSIONES

1. El presente trabajo confirma la hipótesis inicialmente planteada, ya que se estableció como herramienta de trabajo un protocolo de calificación el cual permitió establecer las actividades a realizar y los criterios de aceptación.
2. Se cumplió con los objetivos planteados en este trabajo, al recabar la evidencia documentada de que el túnel marca Libra modelo Blue Galaxy está instalado, opera y se desempeña de acuerdo a sus especificaciones de diseño y a lo establecido por Merck México S.A, lo que permite cumplir con las regulaciones nacionales e internacionales, garantizando la consistencia del proceso y un aumento en la productividad.
3. El aumento de letalidad en términos de F_H es función directa de la temperatura y tiempo de exposición durante el proceso de despirogenización.
4. La velocidad de la banda transportadora es el parámetro clave a considerar en los procesos de despirogenización en túnel, ya que de esta depende el tiempo de exposición de las ampollas.
5. Los ciclos de despirogenización para ampollas de 1, 2 y 3 mL quedaron validados, con lo que se asegura su eficacia en los procesos de manufactura donde sean utilizados.

10. PROPUESTAS Y/O RECOMENDACIONES

1. Incluir los parámetros de trabajo obtenidos en la validación del proceso despirogenización en el PNO de operación vigente.
2. Monitorear la consistencia del proceso de despirogenización anualmente, preferentemente después de un mantenimiento mayor, realizando una corrida por formato de trabajo.
3. Implementar un sistema de control de cambios, el cual establezca como actuar en probables cambios donde se vea afectado el túnel.

11. BIBLIOGRAFÍA

1. Nash, A.R. Ira, R.B, 1993. "Pharmaceutical Process Validation" Edit Deckker: Drug and the Pharmaceutical Sciences; 2nd Edition: Vol 57 New York, USA.
2. S.S.A "Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993, Buenas Prácticas de Fabricación para Establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica dedicados a la fabricación de Medicamentos" Diario Oficial de la Federación; México D.F Viernes 31 de julio de 1998. p.p 16-33.
3. Code of Federal Regulations of the Food and Drug Administration 21 CFR 1998 Part 210; Current Good Manufacturing Practice in Manufacturing, Processing, Packing, or Holding of Drugs; Part 211; Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals; Interpharm Press, USA,
4. Agalloco, J.P. Carleton, F.J. 1986 "Validation of aseptic Pharmaceutical processes" Marcel Dekker inc. USA.
5. Guia de la OMS para las buenas prácticas de fabricación 1996
6. FDA. "Guideline on General Principles of Process Validation" 1987. Prepared by: Center for Drug Evaluation and Research, Center for Biologics Evaluation and Research, and Center for Devices and Radiological Health. Food and Drug Administration. USA.
7. Parenteral Drug Association, Inc. 1981. Technical Report No 3. Validation Of Dry Heat Processes Used for Sterilization and Depyrogenation
8. Tauji,K., and S.J. Harrison, 1978. Dry Heat Destruction of Lipopolysaccharide: Dry Heat Destruction Kinetics *Appl. Environ. Microbiol.*, 36: 710-714.
9. USP 24 – 2000 General Information, Sterilization and sterility Assurance of Compendial Articles.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

10.FDA. "Guide to Inspections of Sterile Drug Substance Manufacturers", 1993. Center for Biologics Evaluation and Research, and Center for Devices and Radiological Health. Food and Drug Administration. USA.

11.Parenteral Drug Association, Inc. 1978. Technical Report No 1. Validation of Steam Sterilization Cycles

12.Libra Pharmaceutical Technologies, 1999 "Manual de Operación Túnel Libra Modelo Blue Galaxy". Italia

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

12. REFERENCIAS

13.FDA. "Guideline for Submitting Documentation for Sterilization Process Validation in Applications for Human and Veterinary Drug Products" USA.

14.Nota técnica No. 10. Air Techniques. 1999.

15.National Enviromental Balancing Bureau. EUA. 1986

16.Federal Standard 209E. EUA. Sep 1992.

17.Dream, F.P., "Qualification - Validation in Perspective"; 1994. *Pharm. Eng.*, **14**(5) 74-84.

18.Illa., C "Validación de Procesos en la Industria Farmacéutica" 1990. Revista Mexicana de Ciencia farmacéuticas., **21**(1) 17-23.

19.Maynard, D.W, 1992. "Validation Master Planing" *J.Parent Sci & Tech.*, March: 84-88.

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN