



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES ZARAGOZA

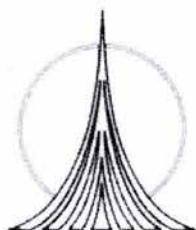
**VALIDACIÓN DEL PROCESO DE
DESPIROGENIZACIÓN PARA
AMPOLLETA DE 2 mL**

T E S I S

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:
NOÉ RICO CONTRERAS**

**DIRECTORA:
Q.F.B. ANTONIA GUILLERMINA ROJAS FERNÁNDEZ**



MÉXICO, D. F.

2004



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.



Dedicado a María Juana Contreras Sánchez (⚭) †

Hay una mujer que, mientras vive, pocas veces la sabemos apreciar, pero después de muerta, daríamos todo lo que tenemos por mirarla de nuevo un solo instante, por recibir de ella un solo abrazo: ella es nuestra madre.

animo

¿Por que lloras mamá? le pregunto un niño a su madre. Porque soy mujer, le contestó ella. Pero, yo no entiendo!!!, dijo el niño. Su madre se inclinó hacia él y abrazándolo le dijo: ...Y nunca lo entenderás mi amor.

Más tarde el niño le preguntó a su papá, ¿Por qué mamá llora a veces sin ninguna razón? Todas las mujeres lloran siempre por ninguna razón...era todo lo que el padre le podía contestar.

El pequeño niño creció y se convirtió en todo un hombre, preguntándose aún ¿Por qué era que las mujeres lloraban sin razón?

Un día el niño convertido en un hombre se arrodilló y le preguntó a DIOS: DIOS... ¿Por qué lloran tan fácilmente las mujeres? y DIOS le dijo...

Cuando hice a la mujer tenía que crear algo especial.

¡Hice sus hombros lo suficientemente fuertes, como para cargar el peso del mundo entero, pero; a la vez lo suficientemente suaves como para confortarlo!

¡Le dí una inmensa fuerza interior, para que pudiera soportar el dar a luz y también hasta el rechazo, que muchas veces proviene de sus propios hijos!

¡Le dí la fortaleza que le permite seguir adelante, cuidando de su familia, sin quejarse, a pesar de las enfermedades y la fatiga, aún cuando otros se rindan!

¡ Le dí la sensibilidad para amar a sus hijos, bajo cualquier circunstancia, aún cuando esos hijos la hallan lastimado mucho ... Esa misma sensibilidad, que hace que cualquier tristeza, llanto o dolor del niño desaparezca y que le hace compartir las ansiedades, dudas y miedos de la adolescencia!

¡Le dí la fuerza suficiente para que pudiera perdonar a su esposo de sus faltas, y la moldeé de una de sus costillas para que ella pudiera cuidar de su corazón!

¡Le dí sabiduría para saber que un buen esposo nunca lastimaría a su esposa, y también a veces le pongo pruebas para medir su fuerza y determinación para mantenerse a su lado a pesar de todo!

Pero Hijo... para poder soportarlo todo... ¡Le dí las lágrimas y son de ella exclusivamente para usarlas cuando las necesite, al derramarlas vierte un poquito de amor en cada una, que se desvanece en el aire y salva a la humanidad!!!

"Es su única debilidad... es una lágrima por la humanidad".

Gracias Dios por haber creado a la mujer... ahora comprendo el sentir de mi madre, hermana, esposa e hija...respondió el hombre con un fuerte suspiro en sus labios.

Enrique Rico Vázquez

A quien le debo todo lo que soy y a quien me permitió iniciar el vuelo en mi vida profesional.

Viridiana Rico Galicia

Por ser uno de los principales motivos que me impulsan a continuar recorriendo los caminos de la vida.

Biol. Yolanda Rico Contreras

Por ser una gran amiga y por ayudarme todo momento de mi vida.

José Alberto, Ignacio Enrique, José Jorge

Gracias por hacer la vida más placentera.

Q.F.B. Marina Enciso Arrieta

Por ser una gran compañera, por haberme ayudado de manera incondicional todo este tiempo. Quien siempre tiene una sonrisa y una palabra de aliento, especialmente en tiempos difíciles.

Nuestro quehacer en la vida no consiste en superar a otros sino en superarnos a nosotros mismos, romper nuestros propios récords, sobrepasar nuestro pasado con nuestro presente.

Stewart Johnson

Reconocimientos:

A las profesoras:

Q.F.B. Francisca Robles
Q.F.B. Ma de Lourdes Cervantes
Q.F.B. Lidia Sánchez
M. en C. Beatriz Espinosa

Por su interés mostrado en la revisión del trabajo escrito y valiosas sugerencias, ya que sin su ayuda no hubiese sido posible alcanzar el objetivo.

A mi directora de tesis

Q.F.B. Antonia Guillermina Rojas Fernández

Por su invaluable colaboración en la realización y culminación del presente trabajo.

TABLA DE CONTENIDO

INTRODUCCIÓN

1 FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA	1
1.1 PIRÓGENOS	1
1.1.1 Química y Biología de Endotoxinas	1
1.1.2 Mecanismo de Acción de los Pirógenos.....	4
1.2 DESPIROGENIZACIÓN	6
1.2.1 Métodos por Remoción.....	6
1.2.2 Métodos por Inactivación de la Endotoxina	11
1.3 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE PIRÓGENOS	20
1.3.1 Determinación de Pirógenos por conejos.....	20
1.3.2 Determinación de Pirógenos por L.A.L.	21
1.3.3 Ventajas y Desventajas	22
1.4 TIPOS DE EQUIPOS EMPLEADOS PARA LA ESTERILIZACIÓN/ DESPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO	23
1.4.1 Mecanismos de Transferencia de Calor para los Procesos de Esterilización /Despirogenización por Calor Seco.....	28
1.5 TERMOPARES	30
1.5.1 Tipos de Termopares	34
1.5.2 Termopares de temperatura de referencia.....	44
1.5.3 Procedimiento de Calibración	51
1.6 VALIDACIÓN	55
1.6.1 Elementos de la Validación.....	59
1.6.2 Protocolo de Validación	63
1.7 VALIDACIÓN DE LOS PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN Y DEPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO	64
1.7.1 Cinética de Destrucción Microbiana	67
1.8 RECIPIENTES DE VIDRIO	72
1.9 DIAGRAMA CAUSA EFECTO	75
2 PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	76
3 OBJETIVOS	77
4 HIPÓTESIS	78
5 MATERIALES	79

5.1	EQUIPO	79
5.2	INSTRUMENTACIÓN	79
5.3	MATERIAL	79
5.4	REACTIVOS	79
6	METODOLOGÍA	80
6.1	CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN	80
6.2	CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN	83
6.3	CALIFICACIÓN FUNCIONAL	87
6.4	DIGRAMA DE FLUJO	89
7	RESULTADOS	90
7.1	CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN	90
7.1.1	Documentación	90
7.1.2	Verificación de los Componentes Instalados	91
7.2	CALIFICACIÓN DE LA OPERACIÓN	92
7.2.1	Verificación de las Funciones del Túnel	92
7.2.2	Evaluación de los Filtros Absolutos	96
7.2.3	Estudio de Distribución de Calor en Cámara Vacía	98
7.2.4	Diseño de los Ciclos de Esterilización/Despirogenización	101
7.3	CALIFICACIÓN DEL FUNCIONAMIENTO	107
7.3.1	Estudio de Distribución de Calor con Cámara con Carga	107
7.3.2	Calculo de F_{11} y Evaluación de la Prueba de L.A.L.	110
8	ANÁLISIS DE RESULTADOS	112
9	CONCLUSIONES	117
10	BIBLIOGRAFÍA	118

GLOSARIO

ASTM	AMERICAN SOCIETY FOR TESTING MATERIALS
BPF's	BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN
DQ	CALIFICACIÓN DEL DISEÑO
FDA	FOOD AND DRUG ADMINISTRATION
FEUM	FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS
GMP	GOOD MANUFACTURING PRACTICES
HEPA	HIGH EFFICIENCY PARTICULATE AIR
IQ	CALIFICACIÓN DE LA INSTALACIÓN
LAL	LISADO DE AMEBOCITOS DE LIMULUS
LPS	LIPOPOLISÁCARIDO
NIST	NATIONAL INSTITUTE OF STANDARDS AND TECNOLOGY
OMS	ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD
OQ	CALIFICACIÓN DE LA OPERACIÓN
PQ	CALIFICACIÓN DEL DESEMPEÑO
PNO	PROCEDIMIENTO NORMALIZADO DE OPERACIÓN
UE	UNIDAES DE ENDOTOXINA
USP	U.S. PHARMACOPEIA

INTRODUCCIÓN

De la gran variedad de medicamentos existentes sin duda alguna la fabricación de productos estériles requiere de un cuidado muy especial y atención al detalle debido al riesgo que estos tienen para la salud, si un producto no-estéril o contaminado es suministrado, aumentando la posibilidad de causar daño al paciente durante su terapia, por ello es que las técnicas de esterilización y/o depirogenización cobran cada vez mayor importancia en la fabricación de los parenterales.

Actualmente los fabricantes de productos parenterales pueden elegir varios métodos para destruir o remover los pirógenos, integrados en tres grandes grupos como son: los basados en la inactivación del lípido A, los basados en las características biomoleculares de la endotoxina o bien los basados en inactivación de la endotoxina, sin embargo, en muchos casos la elección del método de despirogenización estará limitada a características del producto o material a despirogenizar.

Durante la fabricación de algunos productos parenterales se utilizan el calor seco durante los procesos de llenado aséptico para llevar a cabo de manera simultánea la esterilización y despirogenización viales o ampollitas de vidrio así como otros materiales resistentes al calor y de esta manera obtener preparados farmacéuticos con la calidad microbiológica requerida.

Los estudios de validación, demuestran que un proceso definido, utilizando los materiales y equipos especificados, da como resultado un producto que uniformemente posee la calidad deseada, además es imperativo que un producto pueda ser reproducido lo más exactamente posible, lote tras lote, por lo que será imprescindible operar y controlar el equipo de tal forma que efectúe de manera óptima y prescindible el trabajo para el cual fue destinado.

Por otro lado, debido a la poca difusión referente a la validación de los procesos de despirogenización llevados a cabo en un túnel, este trabajo pretende proporcionar los lineamientos para establecer un plan de validación de los procesos de esterilización/despirogenización en este tipo de equipos.

Así, este trabajo tiene como objetivo demostrar que el proceso de esterilización/despirogenización que se realiza a la ampollita de 2 mL, empleada como envase primario, asegura bajo las condiciones establecidas y de forma consistente un nivel de esterilización/despirogenización uniforme y por consiguiente la producción de contenedores de vidrio estériles y libres de pirógenos.

1. FUNDAMENTACIÓN DEL TEMA

1.1 PIRÓGENOS

El nombre pirógeno viene del griego “pur” (πυρ)= fuego y “gennao” (γενναο)= produzco, lo que quiere decir forma fuego; en otras palabras produce fiebre.

La fiebre se conoce como una reacción que acompaña a muchas enfermedades más o menos agudas, especialmente a muchas infecciones. Investigaciones sobre la fiebre condujeron a la búsqueda de sustancias que pudieran producir un aumento de la temperatura en los animales superiores y en el hombre. Estas investigaciones fueron dirigidas especialmente por el lado farmacéutico, desde principios del siglo XX, ya que el uso de inyectables aumentó más y más. Muchas investigaciones fueron estimuladas por el hecho de que de vez en cuando algunas soluciones inyectables indeseablemente producían fiebre y se concentró el interés en el examen de las sustancias respectivas.

Por los años 1911-1912 se encontró que estas sustancias, denominadas “pirógenos” por Burdon-Sanders desde 1876, son las responsables del por qué de la fiebre.

Los pirógenos se clasifican como de origen microbiano y no microbiano, sin embargo los más importantes para la industria farmacéutica en la fabricación de parenterales, es la endotoxina, sustancia sintetizada por ciertos microorganismos durante su desarrollo como producto de su metabolismo, la cual es liberada cuando la célula bacteriana muere ⁽¹⁾.

1.1.1 QUÍMICA Y BIOLOGÍA DE ENDOTOXINAS

La pared celular de las bacterias Gram negativas consiste en una membrana interna y una membrana externa. Cada membrana consiste de una bicapa de fosfolípidos y un líquido cristalino que contiene proteínas funcionales. El componente de la pared celular responsable de las reacciones pirógenicas en el hombre es llamado LIPOPOLISÁCARIDO (LPS) y se encuentra localizado en la superficie de la membrana externa. El término “endotoxina” usualmente denota una impureza extraída del LPS que contiene diversos componentes proteicos extraños de la pared celular, por lo cual “LPS” se refiere a material purificado libre de proteínas.

La unidad del LPS está estructuralmente definida y consiste de tres regiones bioquímicas distintas. La región más íntima es la O-antígeno específico, la cual también se refiere como la cadena antígeno o bien, como cadena antígeno somática (figura 1).

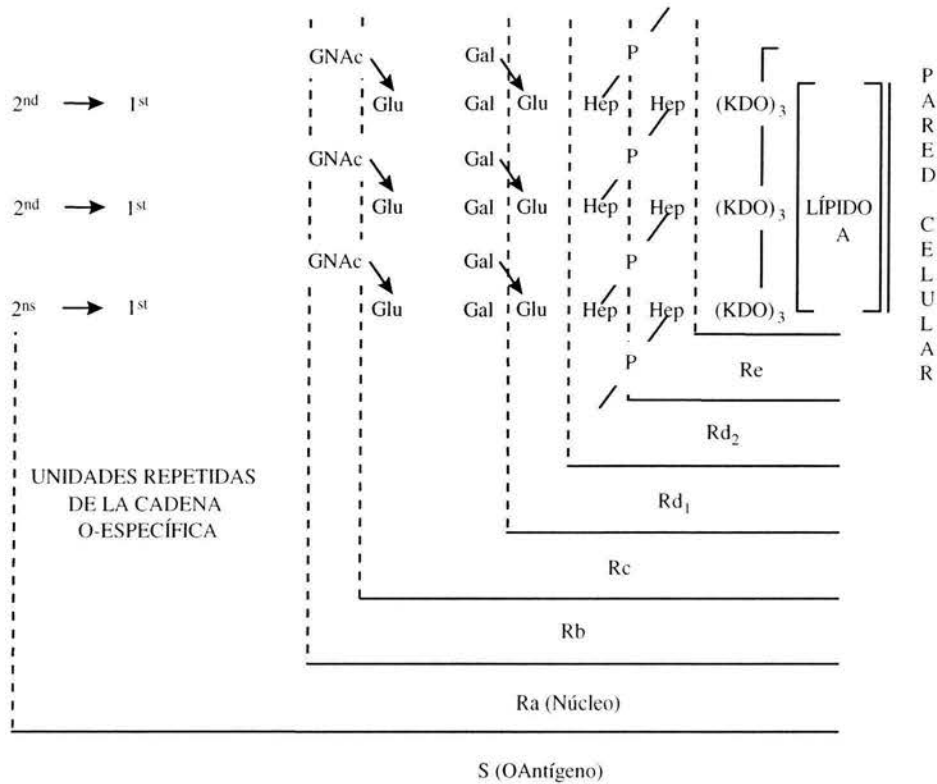


Figura 1 Estructura específica del lipopolisacárido

Esta región se proyecta desde la membrana externa hasta la membrana interna del microorganismo y consiste de un polisacárido de cadenas largas con unidades repetidas de una a siete azúcares. La composición y el orden de la serie repetida de las unidades del polisacárido es única para cada bacteria huésped y muchas de ellas son empleadas para determinar la especificidad serológica del huésped.

La segunda región bioquímica del LPS es llamada el polisacárido central (core) y se localiza en la membrana externa y es una región adyacente a la cadena O-antígeno, el polisacárido central es un oligosacárido compuesto por siete a diez monosacáridos en los cuales se incluye heptosa, glucosa, galactosa, 2-aceto-3-desooctanato (KDO), N-acetilglucosamina y otros azúcares.

La tercera y más profunda región bioquímica del LPS es llamada el Lípido A, la cual causa la mayoría pero no todos los efectos biológicos que le son atribuidos al LPS.

La estructura del lípido A consiste en un disacárido unido β(1-6)-D-glucosamida con grupos fosforilos sustituidos en la posición 4' en el residuo no reductor de la glucosamina (GlcN II), y en la posición 1 en el residuo reductor de la glucosamina (GlcN I). También presenta una cadena larga de ácidos grasos en la posición 2, 3, 2' y 3' (Figura 2).

GlcN I es sustituida en la posición 2 y 3 con un ácido (R)-3-hidroxitetradecanoico no acilado, un enlace éster en la posición 3 y un enlace amida en la posición de 2. GlcN II es sustituido en la posición 2 con un enlace amida, el ácido (R)-3-decanoiloxitetradecanoico y en la posición 3' con un enlace éster al ácido (R)-3-tetradecanoiloxitetradecanoico.

Una parte del lípido A está conectado a la región del polisacárido central del LPS a través de un disacárido KDO en la posición 6' .⁽²⁾

La estructura química del LPS es muy variada entre las diferentes bacterias Gram negativas.

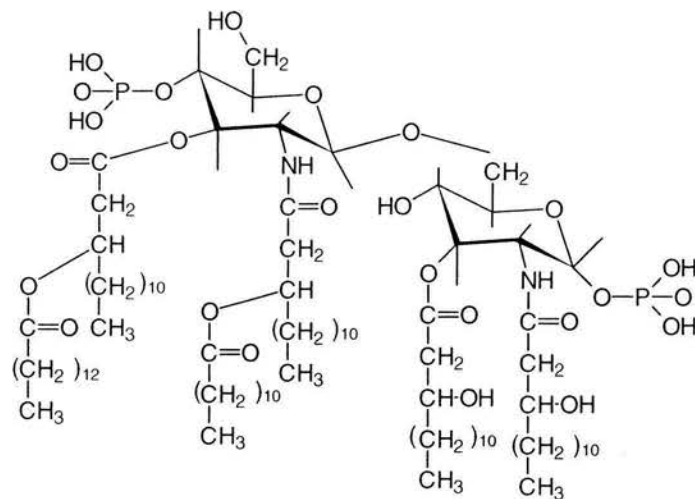
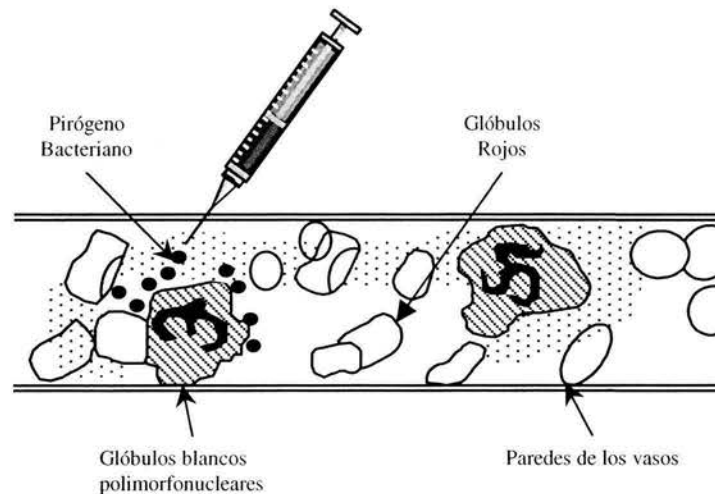


Figura 2. Lípido A de la bacteria Gram negativa *E. coli*

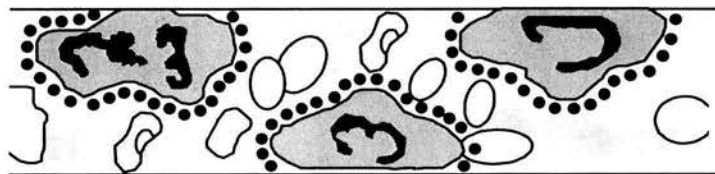
1.1.2 MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS PIRÓGENOS

La respuesta al pirógeno bacteriano luego de su aplicación endovenosa produce el aumento térmico, en un lapso variable entre 30 y 50 minutos. Pero si la misma dosis de pirógenos se coloca en 200 mL de sangre, se lleva a estufa por dos horas y se inyecta, el tiempo de aparición de la fiebre se disminuye.

Esto ha hecho pensar que sería una sustancia de origen endógeno, producida por los glóbulos blancos lesionados por el origen bacteriano, la que actuará sobre los centros de la termorregulación en el hipotálamo, ocasionando la reacción febril.

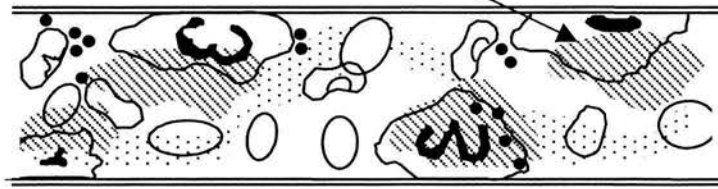


1. Se presume que en la superficie de los leucocitos circulantes existe un sitio capaz de unirse fuertemente a una determinada parte de la estructura del lipopolisácarido.

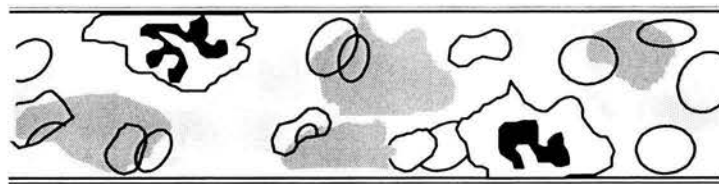


2. Adherencia de los glóbulos blancos polimorfonucleares a las paredes de los vasos.

Sustancia endógena productora de fiebre o pirógena



3. Liberación de una sustancia productora de fiebre o pirógeno



4. El pirógeno viaja a través de la corriente sanguínea hasta los centros termorreguladores en el cerebro, los que reaccionan produciendo fiebre.

Con respecto a los pirógenos bacterianos y endógenos, cabe destacar diferencias muy claras. Los primeros en general resisten el calor, producen fiebre después de un largo periodo de latencia, casi siempre después de los 30 minutos y desarrollan tolerancia. El pirógeno endógeno es destruido por el calor (90° –30 minutos), actúa directa y rápidamente sobre los centros termorreguladores del cerebro y no crea tolerancia. No es dializable, resiste la acción de la tripsina, quimiotripsina y ribonucleasa y no se afecta por cambios de pH desde 2 a 10.5⁽¹⁾.

1.2 DESPIROGENIZACIÓN

Este apartado se dirige hacia los métodos para la destrucción y remoción de los pirógenos. La endotoxina es el pirógeno más significativo en la Industria Farmacéutica. Los métodos de remoción se basan en el tamaño, peso molecular, carga, etc. En lo que respecta a la destrucción de endotoxina, se refieren como una detoxificación por uno o varios tratamientos químicos para romper enlaces químicos lábiles o por bloqueo de sitios requeridos para la actividad pirogénica.

1.2.1. MÉTODOS DE DESPIROGENIZACIÓN POR REMOCIÓN

Los métodos por remoción pueden ser: lavado (dilución), ultrafiltración, ósmosis inversa, modificación de cargas, membranas hidrofóbicas microporosas, afinidad cromatográfica, destilación y filtración por gravedad.

A) Dilución

La despirogenización se basa en el lavado o enjuague de los materiales, tales como cristalería, hasta que la endotoxina es suficientemente diluida para obtener material no pirogénico. A pesar de que estas investigaciones cuestionan la necesidad de la despirogenización como una actividad importante durante la fabricación de contenedores de vidrio y durante los procesos; datos de validación demuestran que los procesos de lavado son efectivos en contenedores parenterales depirogenizados. Usando una concentración de fenol y una suspensión salina se pueden extraer bacterias Gram negativas. El ensayo de pirógenos en conejos dado en la USP debe emplearse para medir la pirogenicidad de los contenedores.

La despirogenización por enjuague es un método conveniente para muchos objetos tales como tapones, los cuales no soportan elevadas temperaturas.

El agua debe ser de calidad aceptable como el agua grado inyectable descrita en la USP. El agua usada no debe contener más de 0.25 EU/mL.

B) Ultrafiltración

Las membranas de ultrafiltración son evaluadas en base a la exclusión limitante del peso molecular y son efectivas como filtros despirogenizadores debido a su acción para separar excelentemente el

tamaño. Las endotoxinas que exceden el peso molecular límite quedan retenidas en la superficie de la membrana. La subunidad básica del LPS es cerca de 10,000 - 20,000 Daltons ⁽²⁾.

C) Osmosis inversa

Las membranas de ósmosis inversa se componen de acetato de poliamida con pequeños poros de tamaño suficiente para excluir iones. Estos pueden ser retenidos en grandes cantidades de sales en condiciones de baja presión, los cuales son filtros semipermeables.

Las membranas de ósmosis inversa convencionales (tamaño de partícula de 10 Amstrong) remueven endotoxinas por simple exclusión de tamaño; estos poros en la membrana no impiden el paso de los pirógenos. Los poros intermedios, tienen la capacidad para retener pirógenos, sin embargo la ósmosis inversa es ampliamente efectiva para remover endotoxinas del agua.

En la práctica, la membrana de la ósmosis inversa de alta integridad debe remover el 99.5 a 99.9 % de los pirógenos encontrados en los sistemas en los que sólo el límite es mayor a un microgramo de endotoxina por mL. Por esta razón, la ósmosis inversa es uno de los dos métodos reconocidos por la USP para la producción de agua inyectable. ⁽²⁾

D) Modificación de la carga media y atracción electrostática

La filtración por gravedad a través de filtros de asbesto es ampliamente usada en la despirogenización por remoción. El mecanismo de los filtros de asbesto (crisólito) se adjudica a sus propiedades mecánicas y electroquímicas, como las siguientes: a pH cerca de 2, la endotoxina agregada tiene carga negativa y se comporta como anión. Así como éstos, pueden ser removidos por absorción, en absorbentes catiónicos tales como los asbestos, los cuales la carga en su superficie es positiva a pH abajo de 8.3. La fuerte atracción electrostática de las fibras entrelazadas del asbesto provee una gran superficie que permite la creación de una área para filtrar a gravedad. Los poros de este tipo de filtro son de configuración aleatoria, por esta causa las partículas retenidas a través de la matriz ya sea por medios mecánicos, son tamizados, sedimentados y presentan una colisión intersticial e intercepción. Por esta razón los filtros a gravedad pueden retener muchas partículas antes que puedan ser retenidas en el tamiz y sean separadas. Los filtros de asbesto con áreas de 1000 cm² pueden eliminar pirógenos de hasta 250 L de soluciones acuosas que contengan una concentración de 0.5 mg/mL de endotoxina.

No obstante la eficacia de absorción del pirógeno depende de la concentración y del tamaño molecular de las sustancias disueltas.

La eficacia de los filtros de asbesto se pierde con las proteínas de elevado peso molecular en las soluciones debido al desplazamiento en la absorción. Por ello la FDA limita el uso de asbesto en el proceso de parenterales de pequeño y gran volumen por lo que se ha tenido gran interés en la preparación de filtros de gravedad de otros materiales.

Las membranas producidas con poliamidas (nylon), o con enlaces covalentes de aminas, exhiben cargas positivas en soluciones acuosas a pH abajo de 9.0 y pueden ser absorbidas moléculas con carga negativas, tales como las endotoxinas. La despirogenización de productos por modificación de la carga media microporosa utilizando membranas con potencial Z positivo se encuentran disponibles y son usadas exitosamente para despirogenizar una extensa variedad de soluciones farmacéuticas.⁽²⁾

E) Atracción hidrofóbica

Polímeros alifáticos (polipropileno, polivinilideno, fluoruro y politetrafluoroetileno) tienen una afinidad única y específica para enlazarse a la endotoxina. Esta propiedad ha sido utilizada para preparar el ensayo de LAL (Lisado de Amebocitos de Limulus) con una gota de polipropileno para detectar la endotoxina en diversos materiales.

Sin embargo el mecanismo electrostático no explica como la endotoxina es absorbida por estos polímeros por ello los polímeros que carecen de grupos hidrofílicos ionizables son capaces de interaccionar con la endotoxina aniónica. En su lugar, comúnmente los grupos no polares de estos polímeros dan a la superficie de la membrana calidad hidrofílica. Por lo tanto, para todas las endotoxinas que tienen el polisacárido hidrofílico y la porción hidrofóbica del lípido A (o ambas) se da la interacción hidrofóbica entre la membrana polimérica y la región del lípido A quien es probablemente responsable de la absorción del LPS.

Algunos autores acuerdan que membranas de polipropileno de 0.1 micrón tienen la suficiente capacidad de absorber 10 microgramos de LPS por centímetros de área filtrada, sobre un amplio rango de pH con una reducción logarítmica de 3 a 4^(1,2).

F) Destilación

La destilación es el método más antiguo para la remoción de los pirógenos del agua. El mecanismo es relativamente simple. El agua es forzada a experimentar dos cambios de fases, de líquido a vapor y de vapor a líquido. Durante la primera fase la ebullición rápida en la destilación provoca que el agua se evapore y el cambio agua vapor se acelera. Por esta causa el LPS el cual es una molécula grande y no puede acelerarse rápidamente como el agua-vapor se va quedando atrás debido a la inercia. Las moléculas del LPS son removidas en las gotas de agua que son acarreadas en el vapor por gravedad debido al alto peso molecular. El agua recién destilada se colecta y se mantiene en contenedores estériles no pirogénicos. ⁽²⁾

G) Carbón activado

La despirogenización de soluciones por el método basado en la absorción física de la endotoxina con carbón vegetal, particularmente carbón activado, ha tenido una gran historia bien documentada. Comúnmente el carbón activado es adicionado a la solución, ésta es agitada y finalmente el carbón es removido por filtración o precipitación. El método se ha usado exitosamente para tratar una gran variedad de soluciones farmacéuticas, incluyendo, solución salina, dextrosa y antibióticos. Sin embargo, el carbón activado tiene una gran afinidad por sustancias no ionizadas de elevado peso molecular las cuales en algunas situaciones limita su aplicación. El carbón activado se puede aplicar en una amplia gama de pH y no afectar la concentración electrolítica. Su principal limitación es la dificultad de tener una remoción completa de todas las trazas del carbón.

Sin embargo, el uso de filtros de carbón activado en la despirogenización, disminuye el problema de la remoción del carbón. Los filtros permiten el proceso continuo de las soluciones por medio de su diseño que combina la adsorción y atrapamiento (por vía del tamaño). El mismo filtro puede despirogenizarse por calor seco y puede ser reutilizado. Sin embargo, a excepción del agua, soluciones fisiológicas electrolíticas y soluciones concentradas de materias primas son candidatas para filtración por este método. ⁽²⁾

H) Remoción cromatográfica de la endotoxina

La afinidad cromatográfica se usa exitosamente para remover la endotoxina para un gran número de productos parenterales.

Los métodos que se usan incluyen polimixina B, histamina, y LAL sefarosa e intercambio iónico.

a) Polimixina B (PMB)

Diversos estudios manifiestan que es un antibiótico catiónico y que puede abrigar la actividad biológica del LPS. Se dice que el mecanismo de inactivación de la endotoxina es a través de un enlace estequiométrico de PMB con la región del lípido A del LPS. Algunos autores afirman que el enlace entre el LPS y el PMB es 1:1 molar. Las características del enlace del PMB que se lleva a cabo por este método presenta afinidad por la columna y exitosamente puede ser removido de 1 a 10 mcg/mL de varias endotoxinas en diversas soluciones ^(1,2).

b) Histamina

Este adsorbente exhibe una elevada afinidad a los pirógenos por su baja fuerza iónica a pH de 7 y elevada temperatura con flujos relativamente pequeños. Los datos sugieren que mucho más de 0.9 mg de endotoxina son adsorbidos por cada mL de adsorbente que se pueden generarse por el enjuague de una solución de NaOH 0.2 M que contenga de 10 a un 30 % de etanol. Consecutivamente el uso de una solución de NaCl 1.5 M puede utilizarse para lavar mejor la columna seguida por una solución de deoxiquelato de sodio 0.5 %, NaOH 0.2 M y NaCl 1.5 M ^(1,2).

c) Lisado de Amebocitos de Limulus en Sefarosa

Lisado de Amebocitos de Limulus (LAL) es un preparado único de células sanguíneas encontradas en el cangrejo “cacerola”. El lisado se prepara de estas células que contiene diversas proteínas que gelifican en presencia de endotoxina en aproximadamente un minuto. Sin embargo, LAL puede ser completado con enlaces sefarosa y usando una columna con afinidad a endotoxina.

El mecanismo exacto de la despirogenización por LAL es incierto, se ha sugerido que LAL es capaz de remover la endotoxina por adsorción de la concanavalina A y la eritropoietina. Simultáneamente, algunos otros autores describen que este fenómeno se debe a la inactivación de la actividad enzimática de LAL. Por otro lado se ha encontrado que una inactivación fraccionada de LAL puede ser obtenida por calentamiento a 60° C durante 20 minutos. LAL es centrifugado a 5000 r.p.m. durante 6 min. a 5° C y se remueve el precipitado. El sobrenadante, el cual contiene factores de

inactivación se usa exitosamente para inactivar el 80% de la endotoxina de prueba (500 ng/mL) tratadas por 30 min. a 37°C. ⁽²⁾

d) Intercambio Iónico

Las endotoxinas típicamente presentan una carga negativa, la cual se debe en parte a los grupos fosforilo y carboxilo en las resinas de intercambio aniónico es por ello que las endotoxinas son atraídas por las resinas aniónicas, dando como resultado una pérdida entre el 80 y el 85 % de endotoxinas.

Algunos autores manifiestan que la despirogenización por este método es muy ineficiente, debido a que los resultados obtenidos no mantienen una consistencia y generalmente se obtienen resultados muy variables ⁽¹⁾.

1.2.2. MÉTODOS DE DEPIROGENIZACIÓN POR INACTIVACIÓN DE LA ENDOTOXINA

En esta sección, la despirogenización va dirigida al punto de inactivación o destrucción de endotoxina, el cual puede ser medido por la prueba de pirogenicidad en los conejos o por la reactividad de LAL.

El proceso de destrucción incluye al calor seco, calor húmedo (vapor), el uso de ácidos o bases, sustancias oxidantes, agentes alquilantes y radiaciones alquilantes.

A) Calor húmedo

Varios investigadores han estudiado la termoestabilidad de la endotoxina y han concluido que el calor húmedo aplicado convencionalmente como autoclaveado es poco efectivo para despirogenizar. Pues se ha reportado que en el autoclaveado no hay una ebullición efectiva y no se destruye a los pirógenos, también se ha encontrado que solamente “cambios drásticos de calor” pueden destruir a los pirógenos. Las condiciones de una autoclave para una esterilización “normal” no son efectivas para despirogenizar. Se ha demostrado que una despirogenización efectiva en el autoclave se da a 20 psi por 5 horas a pH de 8.2 o por 2 horas a pH de 3.8.

Estudios recientes presentan que la acción de ciertos agentes despirogenizadores pueden aumentar la eficiencia del autoclaveado, tal es el caso del peróxido de hidrógeno, el cual es más efectivo para destruir pirógenos en solución que en autoclave. ^(2,3).

B) Uso de ácidos o bases diluidas

La despirogenización utilizando la hidrólisis ácida o alcalina reduce o elimina la actividad biológica del LPS de la bacteria por inactivación del lípido A. El lípido A está unido al polisacárido central por el ácido 2-ceto-3-doexioctónico (KDO), en el carbono 8 del único azúcar del LPS bacteriano. La hidrólisis ácida actúa en este enlace ácido lábil cetocídico para separar al lípido A del LPS. Por esta causa la liberación del KDO el cual está unido al polisacárido central actúa como soluto acarreador de la porción lipídica de la molécula, el lípido A libre es insoluble en soluciones acuosas y la actividad pirogénica es reducida o eliminada.

La hidrólisis fuertemente ácida actúa mejor en la fracción del lípido A pues altera la conformación de la molécula y la unión a los sitios funcionales necesarios.

La hidrólisis ácida usando ácido clorhídrico 0.05 N por 30 minutos a 100° C o ácido acético glacial al 1 % por 2 - 3 horas a 100° C se ha reportado como la preferible para despirogenizar.

Se ha encontrado que ácido clorhídrico 0.01 N reduce el último grupo fosfato de la diglucosamina del LPS. En ausencia de este grupo fosfato, la toxicidad, incluyendo la pirógenicidad, es marcadamente reducida.

Diversos autores han reportado que la despirogenización se incrementa cuando el LPS es expuesto a hidrólisis alcalinas con hidróxido de sodio 0.1 N en etanol al 95 % o dimetil sulfóxido al 80 %. La despirogenización efectiva se ha reportado con el uso de hidróxido de sodio 0.1 M 30° C por 72 horas y 4° C por 16 horas. ⁽²⁾

C) Oxidación

La inactivación de endotoxinas por oxidación se conoce desde principios de siglo cuando Hort y Penfond (1912) reportaron que las células de *Salmonella typhosa* disminuían su capacidad para producir fiebre cuando eran lavadas con peróxido de hidrógeno. El mecanismo de acción del peróxido

de hidrógeno en el LPS es desconocida sin embargo se sugiere que existe una peroxidación de los ácidos grasos presentes en el lípido A del LPS. Se ha observado que se obtienen resultados no pirogénicos después de un tratamiento con peróxido de hidrógeno 0.1 N en ebullición durante 2 horas o autoclaveado con peróxido de hidrógeno 0.4 N a 116° C por 20 minutos. Sin embargo, se ha encontrado que es más efectivo este tratamiento cuando se ebulle en presencia de peróxido de hidrógeno 1 % por 2 horas, bajo estas condiciones las soluciones finales se encuentran libres de peróxido de hidrógeno. Gould y Novitsky (1985) claramente demostraron que la inactivación de endotoxinas por peróxido de hidrógeno es dependiente del tiempo, pH y concentración. Usando 1 litro de peróxido de hidrógeno al 2.7 % a 65° C por una hora, estos autores observaron una reducción de aproximadamente un 90 % de endotoxina la cual fue medida por LAL. Cuando el peróxido de hidrógeno se incrementa al 27 %, virtualmente una destrucción del 100 % se lleva a cabo en menos de una hora. La despirogenización oxidativa usando peróxido de hidrógeno ofrece varias ventajas sobre otros métodos. El peróxido de hidrógeno es de manipulación segura, puede ser eliminado fácilmente de la solución, y el tratamiento se lleva bajo condiciones no extremas (baja concentración de peróxido de hidrógeno y baja temperatura) sin embargo, también presenta la desventaja que el peróxido de hidrógeno puede adulterar el producto.

Los métodos de despirogenización oxidativa usando agentes diferentes al peróxido de hidrógeno son empleados para aplicaciones específicas. Esto incluye tratamientos con oxígeno molecular, ácido hipocloroso o hipoclorito, ácido peryódico o peryodato sódico, permanganato de potasio diluido, ácido nítrico, dicromato y dióxido de selenio.⁽²⁾

D) Alquilación

Diversos autores han reportado que el tratamiento de endotoxinas con agentes alquilantes disminuye su pirogenicidad. Se ha demostrado que disminuye la pirogenicidad a 100 folds cuando la endotoxina es tratada con anhídrido acético, de la misma forma se ha reportado una disminución de 100 a 1000 folds cuando la endotoxina es tratada con anhídrido succínico. El mecanismo de esta reducción es a través de una acetilación y una succinilación respectivamente. Varios estudios han demostrado que el tratamiento con anhídrido ftálico, un fuerte agente alquilante, causa una reducción en la pirogenicidad de 10000 folds y una reducción de 1000 fold en la muerte de ratones. La alquilación ocurre a través de la sustitución nucleofílica en la glucosamina enlazada al lípido A y/o en la

etanolamina de la región central del LPS. El óxido de etileno (Eto) que es también un fuerte agente alquilante, presenta una reducción del 94 % tras la esterilización de endotoxinas de *E. coli* inoculadas en aluminio o vidrio. El ciclo de esterilización con óxido de etileno involucra el 12 % de óxido de etileno y el 88 % de freón TM a una humedad relativa del 50 % y 3.5 psi durante 6.5 horas.

E) Radiación ionizante.

La radiación gama es comúnmente utilizada en la esterilización de una gran variedad de productos farmacéuticos y dispositivos médicos particularmente en aquellos que son termolábiles, un ejemplo son los plásticos o aquellos que se presentan en forma sólida como los polvos, adicionalmente la radiación gama es en algunas instancias el método de elección para sustancias susceptibles a la alquilación por el óxido de etileno. El mecanismo de acción de la radiación sobre el LPS no es bien conocido dado que no ha sido sujeto a investigaciones a fondo y tal parece que la sustitución nucleofílica al igual que con el óxido de etileno ocurre en el grupo de la glucosamina del lípido A y/o la de la cadena de la etanolamina.

Hoy por hoy únicamente un estudio de la aplicación directa de la radiación gama ha sido publicado, en donde los resultados indican que se logra la reducción del 88 % de la endotoxina con la aplicación de una dosis de 4.5 mrad de cobalto 60. ⁽²⁾

F) Calor seco

Tradicionalmente, la distribución de calor se da a través de formas de convección/conducción, u otros sistemas similares, como hornos de radiación infrarroja etc. este tipo de equipos se han usado para la esterilización/despirogenización de cristalería, accesorios de metal, instrumental, materiales termolábiles, y otros materiales, tales como ceras, aceites vegetales y derivados del petróleo. Existen nuevos métodos que involucran la combinación de calor seco y rayos X o radiaciones gamma, quizás ofrezcan una mejor alternativa. En todas excepto la última de las combinaciones, se emplean temperaturas relativamente altas o tiempos de calentamiento extendidos a temperaturas bajas para despirogenizar. No sólo tales tratamientos inactivan o destruyen la endotoxina, también el ciclo usual de despirogenización provee un margen de seguridad que excede la probabilidad de 10^{-6} de unidades no estériles.

En general, la aplicación de calor seco a no menos de 250°C por no menos de 30 minutos es el procedimiento estándar para la industria farmacéutica, aunque se ha usado 140 -180°C por 2 - 4 horas para la esterilización (y presumiblemente despirogenización) de aceites para inyectables o para uso oftálmico.

El origen de los estándares de no menos de 250 °C por no menos de 30 minutos para despirogenizar están basado en los estudios de Welch et al. sobre la termoestabilidad de los pirógenos y su remoción en la penicilina. Este ciclo de despirogenización está publicado de esta manera en varios convenios nacionales e internacionales, regulaciones nacionales, federales y muchas referencias de textos establecidos.

Antes de 1978 no hubo estudios, en publicaciones, sobre la cinética de inactivación de endotoxinas microbianas o de la validación del proceso de despirogenización por calor seco usando endotoxinas. La escasa información fue probablemente debido a la falta de un ensayo cualitativo relativamente barato. Los investigadores se vieron limitados primeramente por lo imprecisa y por la relativa insensibilidad de la prueba de pirógenos in vivo en conejos y esta limitación hizo que los datos de la cinética de destrucción de endotoxina sea impráctica. Fue hasta la llegada y refinamiento del ensayo de LAL para la detección de endotoxinas in vitro o lipopolisácaridos (LPS) derivados de las bacterias Gram negativas una técnica in vitro relativamente barata, cuantitativa, sensible para cantidades de endotoxina del orden de picogramos y aplicable para la detección de la cinética de inactivación.

Junto con el desarrollo de los procedimientos prueba se comercializa un lipopolisácarido estandarizado, químicamente puro. Tales preparaciones pueden servir como indicadores biológicos para la validación del proceso de despirogenización por calor seco de la misma manera como preparaciones de esporas derivadas de las especies de *Bacillus* sirven para la validación del proceso de esterilización con vapor, óxido de etileno, calor seco y procesos de radiación.^(2, 3)

Tabla 1. Mecanismos de Acción de los Métodos de Despirogenización

DESPIROGENIZACION POR REMOCION	DESPIROGENIZACION POR INACTIVACION DE LA ENDOTOXINA
<p>Dilación Se basa en el lavado o enjuague de los materiales usando fenol y una suspensión salina</p> <p>Ultrafiltración Se basa en la exclusión molecular</p> <p>Osmosis inversa remueven endotoxinas por simple exclusión de tamaño de partícula</p> <p>Modificación de la carga y atracción electrostática Se modifica la carga de la superficie de los materiales filtrantes por medios químicos modificando sus propiedades electrocinéticas</p> <p>Atracción hidrofóbica Las endotoxinas que tienen el polisacárido hidrofílico y la porción hidrofóbica del lípido A (o ambas) se da la interacción hidrofóbica entre la membrana polimérica y la región del lípido A quien es probablemente responsable de la absorción del LPS.</p> <p>Destilación El agua es forzada a experimentar dos cambios de fases, de líquido a vapor y de vapor a líquido, dejando en el remanente la endotoxina</p> <p>Carbón activado La despirogenización de soluciones por este método basado en la absorción física de la endotoxina con carbón vegetal,</p> <p>Remoción cromatográfica <i>Polimixina B</i> Se dice que el mecanismo de inactivación de la endotoxina es a través de un enlace estequiométrico de PMB con la región del lípido A del LPS <i>Histamina</i> La despirogenización de soluciones por este método esta basado en la adsorción de los pirógenos por la histamina <i>LAL en sefarosa</i> se ha sugerido que LAL es capaz de remover la endotoxina por adsorción de la concanavalina A y la eritropoietina</p>	<p>Calor húmedo Se ha demostrado que una despirogenización efectiva en el autoclave se da a 20 psi por 5 horas a pH de 8.2 o por 2 horas a pH de 3.8.</p> <p>Ácidos y bases La inactivación de la endotoxina se lleva a cabo por la hidrólisis ácida o alcalina del LPS de la bacteria</p> <p>Oxidación Sugiere que existe una peroxidación de los ácidos grasos presentes en el lípido A del LPS.</p> <p>Alquilación El mecanismo de esta reducción es a través de una acetilación y una succinilación respectivamente</p> <p>Radiación ionizante Tal parece que el mecanismo de acción se da a través de una sustitución nucleofílica en el grupo de la glucosamina del lípido A y/o la de la cadena de la etanolamina.</p> <p>Calor seco Tratamientos con calor seco inactivan o destruyen la endotoxina por incineración</p>

Tabla 2. Campo de Aplicación de los Métodos de Despirogenización

DESPIROGENIZACION POR REMOCION	DESPIROGENIZACION POR INACTIVACION DE LA ENDOTOXINA
<p>Dilación La despirogenización por enjuague es un método conveniente para muchos objetos tales como tapones, los cuales no soportan elevadas temperaturas.</p> <p>Ultrafiltración En la despirogenización de soluciones de antibióticos, azúcares, aminoácidos, salinas entre otras.</p> <p>Osmosis inversa La ósmosis inversa es ampliamente efectiva para remover endotoxinas del agua.</p> <p>Modificación de la carga y atracción electrostática Se usa exitosamente para despirogenizar una extensa variedad de soluciones farmacéuticas</p> <p>Destilación Básicamente se emplea para la obtención de agua inyectable</p> <p>Carbón activado El método se ha usado exitosamente para tratar una gran variedad de soluciones farmacéuticas, incluyendo, solución salina, dextrosa y antibióticos</p> <p>Remoción cromatográfica <i>Polimixina B</i> Se emplea para la inactivación de endotoxinas en vacunas <i>Histamina</i> Se emplea en la despirogenización de algunas soluciones. <i>LAL en sefarosa</i> Se emplea con fines de investigación en la remoción de endotoxina a pequeña escala de eritropoyetina.</p>	<p>Calor húmedo Los medios filtrantes en particular pueden ser esterilizados y despirogenizados de esta manera</p> <p>Ácidos y bases Dependiendo de las condiciones de fabricación los pH muy altos o bajos pueden beneficiar las propiedades de despirogenización de algunos materiales como tuberías, superficies de equipos etc.</p> <p>Oxidación En la preparación de soluciones libres de pirógenos tales como, salinas, dextrosa y agua para inyectables</p> <p>Alquilación Despirogenización de dispositivos médicos principalmente de plástico</p> <p>Radiación ionizante Despirogenización de dispositivos médicos principalmente de plástico</p> <p>Calor seco Para la esterilización/despirogenización de cristalería, accesorios de metal, instrumental, materiales termolábiles, y otros materiales.</p>

Tabla 3. Ventajas de los Métodos de Despirogenización

DESPIROGENIZACION POR REMOCION	DESPIROGENIZACION POR INACTIVACION DE LA ENDOTOXINA
<p>Dilación La despirogenización por enjuague es un método conveniente para muchos objetos tales como taponés, los cuales no soportan elevadas temperaturas.</p> <p>Ultrafiltración Es un método de despirogenización muy flexible dado que se puede usar para la despirogenización de productos parenterales, además del agua. Los cartuchos que se usan son más baratos y son más fáciles de limpiar.</p> <p>Osmosis inversa Es uno de los métodos reconocidos por la USP para la fabricación de agua para inyectables, también puede ser empleado en despirogenizar algunos alcoholes y ureas</p> <p>Modificación de la carga y atracción electrostática Se emplean filtros en los que se puede modificar la carga de la superficie filtrante cambiando de negativa a positiva por tratamiento con un coloide catiónico además de ser empleados como simples filtros mecánicos</p> <p>Destilación Es el otro de los dos métodos reconocidos oficialmente por la USP para la fabricación de agua para inyectables</p> <p>Carbón activado Este tipo de filtros pueden ser despirogenizados y re-usados.</p> <p>Remoción cromatográfica <i>Polimixina B</i> Es uno de los métodos más empleados en aplicaciones de investigación. <i>Histamina</i> Este método se ha empleado con fines didácticos y de investigación. <i>LAL en Sefarosa</i> Su empleo se ha reportado en algunos estudios de investigación.</p>	<p>Ácidos y bases La despirogenización por hidrólisis ácido/base puede ser muy útil cuando muchos medios convencionales para la despirogenización son prácticamente imposibles de emplear, tales como en la despirogenización de tuberías.</p> <p>Oxidación El peróxido de hidrógeno es de manipulación segura, puede ser eliminado fácilmente de la solución, y el tratamiento se lleva bajo condiciones no extremas (baja concentración de peróxido de hidrógeno y baja temperatura)</p> <p>Alquilación Se puede utilizar para despirogenizar una gran variedad de productos y dispositivos farmacéuticos, especialmente los que son termolábiles como por ejemplo el plástico.</p> <p>Radiación ionizante Es comúnmente utilizada en la esterilización de una gran variedad de productos farmacéuticos y dispositivos médicos particularmente en aquellos que son termolábiles, un ejemplo son los plásticos o aquellos que se presentan en forma sólida como los polvos, adicionalmente la radiación gama es en algunas instancias el método de elección para sustancias susceptibles a la alquilación por el óxido de etileno.</p> <p>Calor seco Es un método empleado para esterilizar/despirogenizar materiales que son afectados por agentes químicos tales como ceras, aceites vegetales y derivados del petróleo</p>

Tabla 4. Desventajas de los Métodos de Despirogenización

DESPIROGENIZACION POR REMOCION	DESPIROGENIZACION POR INACTIVACION DE LA ENDOTOXINA
<p>Dilación Durante la despirogenización de contenedores de vidrio por este método existe la posibilidad de que quede agua remanente y esto constituye una buena fuente de desarrollo microbiano y por consiguiente potenciales contenedores de pirógenos, los cuales no se destruyen durante el proceso de secado quedando en los contenedores por largo tiempo.</p> <p>Ultrafiltración El uso de la ultrafiltración en la industria farmacéutica ha sido un poco limitada por cuestiones regulatorias. La principal razón para esta restricción está en la definición de la USP para la obtención de agua para inyectables, en la cual se especifica que ésta se debe obtener por destilación o por ósmosis inversa.</p> <p>Ósmosis inversa Algunos sistemas de ósmosis inversa presentan problemas en su diseño de las tuberías, debido a que muchas veces llegan a quedar como lo que se conoce como "piernas muertas" por no tener un buena recirculación.</p> <p>Modificación de la carga y atracción electrostática La eficacia de los filtros de asbesto (empleados como filtros que pueden modificar su carga y atracción electrostática) se pierde con las proteínas de elevado peso molecular en las soluciones debido al desplazamiento en la absorción. Por ello la FDA limita el uso de asbesto en el proceso de parenterales de pequeño y gran volumen.</p> <p>Destilación No puede ser empleado para purificar productos parenterales que no sea agua. Comparado con otros métodos como la ultrafiltración es más costosa.</p> <p>Carbón activado El uso de carbón activado esta limitado en algunos sentidos por características físicas. Por ejemplo la capacidad de adsorptividad física para moléculas orgánicas depende del peso molecular, tamaño, forma, momento dipolar etc. Además pueden encontrarse trazas de carbón activado en el filtrado.</p> <p>Remoción cromatográfica <i>Polimixina B</i> No se cuenta con suficientes estudios que aseguren su utilidad y seguridad. <i>Histamina</i> Para incrementar su actividad adsorbente sobre el LPS es necesario el empleo de otras entidades químicas como el NaOH con Etanol. <i>LAL en Sefarosa.</i> La inactivación de la endotoxina en el mejor de los casos llega a ser del 80 %. Su uso se ha limitado mucho en la industria farmacéutica en donde solo se ha empleado en pequeñas escalas, para propósitos de investigación, y el uso de LAL para remover endotoxinas de productos parenterales es muy costoso, además de ser muy difícil su control.</p>	<p>Calor húmedo Varios investigadores han estudiado la termoestabilidad de la endotoxina y han concluido que el calor húmedo aplicado convencionalmente como autoclaveado es poco efectivo para despirogenizar. Pues se ha reportado que en el autoclaveado no hay una ebullición efectiva y no se destruye a los pirógenos</p> <p>Ácidos y bases El uso de la despirogenización ácido/base en la manufactura de productos farmacéuticos esta extremadamente limitada, porque requiere de varias pruebas extras como lo son las pruebas de estabilidad de los materiales a despirogenizar y pruebas adicionales de validación.</p> <p>Oxidación presenta la desventaja que el peróxido de hidrógeno puede adulterar el producto</p> <p>Alquilación En algunas instancias no es el método de elección para substancias susceptibles a la alquilación por el óxido de etileno.</p> <p>Radiación ionizante Es un método relativamente costoso y algunos productos pueden sufrir degradación a altas concentraciones de Co₆₀.</p> <p>Calor seco No puede ser aplicable a materiales susceptibles al calor como lo son los materiales plásticos.</p>

1.3 MÉTODOS DE DETECCIÓN DE PIRÓGENOS

La prueba de pirógenos es muy importante, ya que de ella depende en gran parte que un producto parenteral salga al mercado. Esta prueba se ha venido realizando en conejos, ya desde 1942 es la prueba oficial en la United States Pharmacopeia (U.S.P.), para detección de pirógenos en materias primas y productos terminados. Actualmente se tiene la posibilidad de sustituir esta prueba por el método de LAL (Lisado de Amebocitos de Limulus), siempre y cuando se lleve a cabo la validación previa de la técnica, y los resultados sean aprobados por la Secretaría de Salud (4).

1.3.1. DETERMINACIÓN DE PIRÓGENOS POR CONEJOS

La prueba en conejos es una prueba *in vivo*, la cual se basa en la capacidad que tienen los conejos para desencadenar una respuesta febril cuando existe la presencia de agentes pirogénicos, principalmente endotoxinas, de tal manera que la dosis umbral de endotoxina que existe para provocar una reacción pirógenica es igual tanto en el hombre como en el conejo.

En los inicios del uso de productos parenterales y terapias intravenosas, Florence Seibert observó que enseguida de la aplicación de estos productos, se presentaba fiebre y otros efectos colaterales peligrosos, debido a la presencia en dichos productos de sustancias que provenían de microorganismos; ante esto demostró la necesidad de usar agua libre de estas sustancias para la fabricación de productos parenterales e implementó el sistema de prueba para la detección de pirógenos en conejos, que consiste en medir la elevación de temperatura del conejo después de administrarle por vía endovenosa, la solución en estudio.

La prueba está diseñada para productos que puedan tolerar los animales, en dosis que no excedan de 10 mL/kg de peso corporal, por vía endovenosa y en un tiempo no mayor de 10 minutos. Los productos como antibióticos o biológicos se indicarán en las normas y regulaciones oficiales. Las condiciones dentro de las cuales se realiza la prueba, pueden variar, de acuerdo al país donde se realice.

Durante cerca de 60 años la prueba de pirógenos en conejo se ha reconocido como la única prueba oficial en las diferentes farmacopeas. A pesar del vasto conocimiento obtenido sobre la química, y fisiología de los pirógenos durante todo este tiempo, la prueba permanece básicamente sin cambio. Está sujeta a una interpretación de todo o nada; es decir, pasa o no pasa, con resultados dependientes de la sensibilidad de tres conejos a los pirógenos contaminantes, presentes en la solución sometida a prueba.

Los esfuerzos para hacerla una prueba biológica cuantitativa, hasta ahora, han fallado, asimismo se critica que esta prueba no pueda aplicarse a ciertos productos.

Los defensores de la prueba, señalan el tiempo de uso exitoso de la misma y que en general han funcionado muy bien en todos estos años; en muy raras ocasiones se han visto reacciones pirógenicas en humanos y negativas en conejos. Por esta razón la prueba en conejos ha demostrado ser un excelente control de calidad que permaneciera como una herramienta importante para asegurar la inocuidad del arsenal de productos farmacéuticos parenterales ⁽⁴⁾.

1.3.2. DETERMINACIÓN DE PIRÓGENOS POR LAL

La prueba LAL ha sido reconocida como el método más conveniente para detectar endotoxinas comúnmente conocidas como pirógenos.

Es una prueba *in vitro*, que detecta y cuantifica endotoxina pirógenica que se basa en la capacidad que tiene el Lisado de Amebocito del cangrejo *Limulus polyphemus*, de reaccionar con la endotoxina para dar lugar a la formación de un gel.

El cangrejo cacerola posee un sistema primitivo de gelificación sanguínea como mecanismo de defensa contra bacterias Gram negativas. Se observó que cuando el cangrejo es herido se dispone a la invasión de endotoxinas o bacterias, ya que sus células sanguíneas o Amebocitos, se agregan para formar una malla, encima de la cual se forma el gel proteico.

En 1902 Loeb describe una enfermedad de los cangrejos cacerola que consiste en la coagulación intravascular que trae como consecuencia la muerte del animal.

En 1954 Bang junto con Levine, descubrieron que la etiología de la enfermedad se debía a endotoxinas; y para 1956 iniciaron el estudio a fondo de esta enfermedad. Doce años después llegaron a la conclusión de que la reacción de gelificación es de tipo enzimático ya que se lleva a cabo entre las proteínas coagulables de los Amebocitos circulantes del cangrejo y de las endotoxinas, de esta forma son ellos los primeros en observar que la presencia de pequeñas cantidades de endotoxina, del orden de nanogramos; existe la presencia de la reacción de gelificación *in vitro*.^(4,5)

Con la prueba de endotoxinas bacterianas, se estima que la concentración de endotoxina puede estar presente en una muestra parenteral. Los métodos más empleados son métodos de tapón de gel, método turbidimétrico y método cromogénico.

El método turbidimétrico es un método de cuantificación; que va detectando diferentes concentraciones de endotoxinas siguiendo una cinética turbidimétrica, esta técnica se realiza en un

equipo diseñado especialmente (LAL-5000), también se conoce como la técnica del microplato, se corre una curva estándar donde se mide la densidad óptica (por espectrofotometría) contra el tiempo y sólo necesita 0.1 mL. del reactivo y 0.4 mL. de muestra. Detecta desde 0.1 – 1.0 EU/mL ó 0.01 – 1000 EU/mL.

El método cromogénico es similar al turbidimétrico, pero en esta técnica el desarrollo de color va siendo monitoreado; la detección de este método es de 0.005 EU/mL. A la mezcla de reacción se le adiciona un sustrato sintético, el sustrato tiene una región terminal con un aminoácido como el de la gelificación, pero aquí hay un desarrollo de color amarillo que es medido en un espectrofotómetro.

Por último el método de tapón de gel, se forma mediante una reacción enzimática donde la enzima activada (coagulasa), hidroliza los enlaces específicos de la proteína presente en el Lisado de Amebocitos de *Limulus* (coagulógeno) dando resultado a la coagulina que forma una pasta gelatinosa que indica la presencia de endotoxinas. ^(5,6)

1.3.3 VENTAJAS Y DESVENTAJAS DE LOS MÉTODOS DE DETECCIÓN DE PIRÓGENOS

La prueba de detección en conejos posee algunas desventajas y limitaciones como la necesidad de tener un bioterio con cierto número de conejos bajo condiciones específicas de alimentación, temperatura, humedad, contar con veterinarios para el cuidado y manejo del mismo, lo cual implica un costo elevado; además de tiempos prolongados para realizar la prueba, otra limitación es la variación de sensibilidad de una colonia a otra, dando como resultados falsos negativos. Por otro lado, la importancia de la prueba de *Limulus* para la industria farmacéutica radica en que representa un gran avance en el campo de la detección de pirógenos, ya que es una prueba simple, rápida, efectiva y confiable.

1.4 TIPOS DE EQUIPOS EMPLEADO PARA LA ESTERILIZACIÓN/ DESPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO

Los tipos de esterilizadores por calor seco comúnmente usados en la industria farmacéutica son los esterilizadores de convección forzada por lotes (hornos), túnel por convección forzada, túnel de contraflujo y esterilizadores por flama continua.

El horno de convección natural es un tipo de horno esterilizador por lote también es conocido como horno de convección gravitatoria. En este tipo de hornos, el aire circula de acuerdo con la diferencia de temperaturas en diferentes partes del horno. El aire caliente es menos denso y sube mientras que el aire frío desciende dentro del horno. Luego el aire frío es calentado por el sistema de calentamiento y comienza a subir. Este calentamiento, enfriamiento y recalentamiento del aire establece el movimiento de convección del aire dentro del horno.

En los hornos de convección gravitatoria el calentamiento de la carga es muy lenta e irregular. Un problema serio que desarrollan es la estratificación del aire dando como resultado variaciones de temperatura dentro del horno y cargas del horno.

Los hornos que utilizan convección natural tienen poca utilidad ya que el proceso es poco confiable y sólo se utiliza en áreas muy limitadas.

Los hornos por convección forzada son los más comunes y utilizan los principios de la transferencia de calor por convección para calentar los componentes dentro de la cámara permitiendo variar tanto el tiempo de calentamiento como la temperatura de los ciclos, para esterilizar o despirogenizar diferentes tipos de materiales.

Este tipo de hornos están equipados con ventiladores con motor de tracción que circulan mecánicamente el aire interior del horno. En este tipo de horno la velocidad del aire, la dirección y la intensidad del calor se puede controlar para producir una temperatura uniforme en el horno. La circulación forzada también provoca un rápido sobrecalentamiento o enfriamiento de la carga en el horno resultando en ciclos de tiempos cortos. La circulación forzada también nos permite el uso de grandes y compactas cargas.

Por esta causa los contenedores de vidrio son esterilizados y despirogenizado en este tipo de hornos, el diseño y construcción debe ser tal que se aíse la carga de cualquier contaminante y debe ser capaz de mantener la limpieza. Cuando la circulación forzada resulta más eficiente en el horno esta también debe crear un área concerniente a esta operación, la circulación ineficiente del aire resulta del diseño defectuoso del horno. Por otro lado el arreglo y orden de la carga en el horno puede permitir una pobre circulación. El ventilador es el responsable de la circulación forzada por lo que debe ser adecuada su instalación, operación y mantenimiento. Sumándose a esto los baffles ayudan a direccionar y distribuir el aire del horno para que el calor sea controlado.

Los ventiladores de paletas son apropiados por su tamaño, operación y mantenimiento. Un ventilador apropiado nos ayuda en diversas fases del ciclo o proceso. La ventilación remueve la humedad que se produce cuando los contenedores están mojados provocando la disminución del tiempo de calentamiento. El proceso de ventilación mantiene ligeramente una presión positiva y ayuda a prevenir la contaminación en el horno. La ventilación también puede ayudar a la eliminación de partículas que son acarreadas por el aire hacia el interior del horno. Todo el tratamiento de la circulación del aire: entrada, recirculación y extracción debe ser a través de filtros de alta eficiencia (HEPA).

A la mayoría de los hornos se les asigna ciclos que exceden a los valores requeridos, tanto en tiempo y temperatura con el fin de mantener un margen de seguridad extra. Los ciclos típicos emplean temperaturas de 180 a 300°C. al final del ciclo de calentamiento existe una fase de enfriamiento con el fin de minimizar los efectos del choque térmico de los componentes, evitando con esto la fragilidad y el desprendimiento de partículas de vidrio de los frascos viales y ampollas e incrementando la seguridad en el manejo ⁽⁷⁾.

Un medio más reciente y popular de alcanzar el esterilizado y despirogenizado por calor seco de contenedores de vidrio es el uso de túneles de aire caliente en procesos continuos.

Los contenedores son alimentados directamente al esterilizador desde una maquina lavadora. La unión entre la lavadora y el esterilizador debe estar protegida por un flujo laminar de aire. Cuando los contenedores descargados desde la lavadora están relativamente libres de partículas y el flujo laminar provee protección a los contenedores contra una posible contaminación. Mientras los contenedores viajan a través del túnel continuamente por una banda de metal transportadora, estos son calentados a

la temperatura de esterilización y despirogenización (250-350°C) manteniendo esta temperatura por un tiempo dado, enfriando con aire y la descarga se realiza dentro del área de dosificado aséptico. Dependiendo de la temperatura usada, el tiempo del ciclo para un determinado contenedor puede ser de solo 45 minutos. Los túneles de esterilización continua están diseñados para generar ambas temperaturas: esterilización y despirogenización y mantener un ambiente limpio. Uno de los túneles modernos (figura 3) ha sido diseñado para utilizar flujo laminar que lleva a cabo un buen control de las partículas a temperaturas normales durante la producción en áreas asépticas.

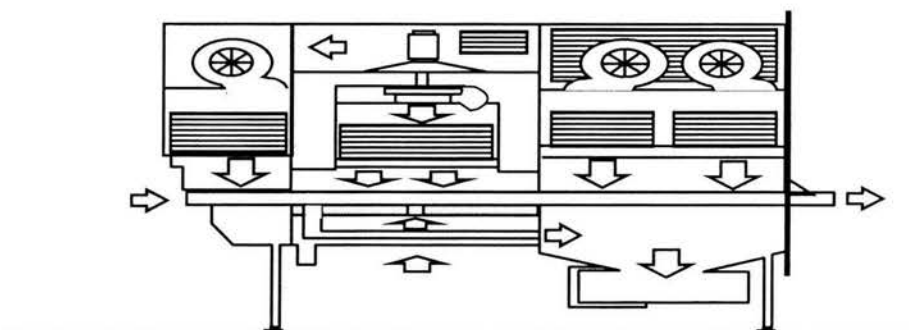


Figura 3 Representación esquemática del flujo laminar de un túnel de esterilización/despirogenización.

El medio esterilizante es filtrado, el flujo laminar, el aire se calienta a altas temperaturas. Los contenedores viajan a través del túnel de izquierda a derecha bajo filtros HEPA. El aire es calentado y forzado a través de filtros HEPA en dirección descendente vertical, el aire caliente fluye de manera laminar no solamente para prevenir la contaminación de partículas sino también nos sirve como un medio más eficiente para transferir el calor.

Debido a que la transferencia de calor es más eficiente el tiempo del ciclo se reduce pudiendo calentar los recipientes rápidamente a una temperatura de la esterilización de 350° C (lo cual acorta el tiempo requerido) y luego son enfriados rápidamente a temperatura ambiente.

Otro moderno diseño de túnel es el llamado túnel de contraflujo por calor radiante. El túnel de contraflujo utiliza calor radiante localizado cerca de la parte inferior de la banda transportadora. Este calor usualmente se obtiene de elementos (níquel-cromo) encerrados en una cubierta de cuarzo para prevenir la generación de partículas. A diferencia de los túneles de flujo laminar descrito anteriormente, los túneles de contraflujo no tienen aire filtrado en la zona de calentamiento.

Los túneles de contraflujo (figura 4) tienen filtros HEPA en la zona de enfriamiento para generar un flujo de aire limpio en la zona de calentamiento. Usa el sistema de cortinas de aire con la extracción por paletas, un flujo laminar horizontal de aire limpio se mueve hacia la entrada del túnel. Los contenedores se enfrían antes de descargarse del túnel. Los contenedores salen de la zona de esterilización hacia la zona de enfriamiento en la cual se usan filtros HEPA proporcionando un flujo laminar para mantener un medio ambiente clase 100. Los contenedores son gradualmente enfriados a través de una combinación de la velocidad del aire mezclado con un porcentaje del aire fresco recirculado. Una vez fríos los contenedores son descargados del túnel dentro de una área aséptica y hacia una línea de envasado.

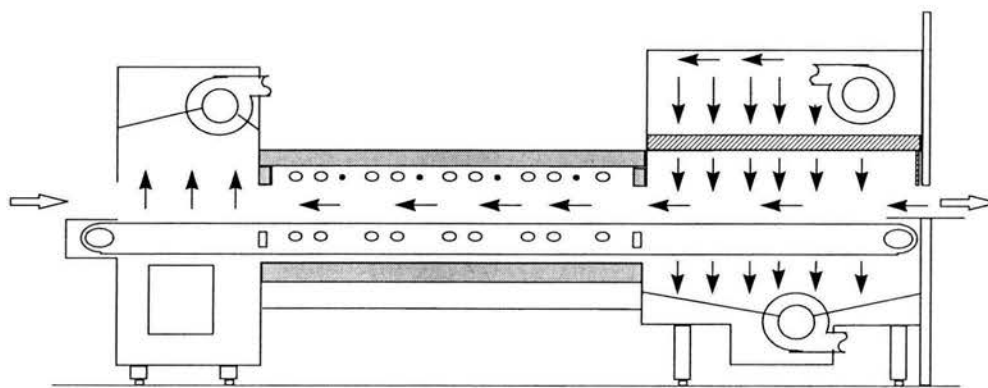


Figura 4 esquema de un túnel de esterilizador/despirogenizador de contraflujo

Los esterilizadores de flama (figura 5) utilizan la conducción y la convección en el proceso continuo para tratar ampollas las cuales se colocan sobre la banda, son lavadas con agua para inyectables y colocadas sobre una plataforma de alimentación, la cual gira y las ampollas son calentadas a aproximadamente 425°C por el calor proveniente de una flama por un lapso de 1 minuto, las ampollas pasan de la cámara de calentamiento a la cámara de enfriamiento donde son gradualmente enfriadas por aire provenientes de filtros HEPA. Las ampollas frías pasan a la zona de llenado en donde después de ser dosificadas son selladas a la flama.^(8,9)

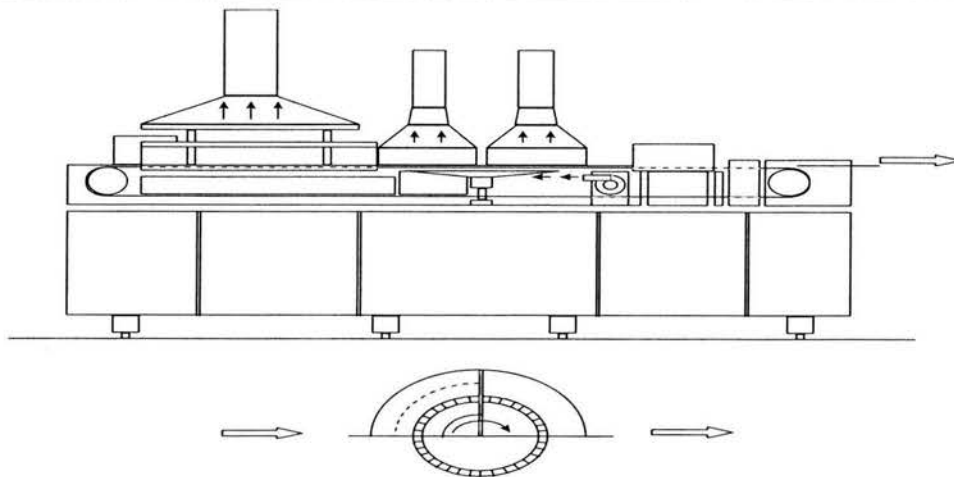


Figura 5 Esquema de un túnel esterilizador/despirogenizador de flama.

Los túneles operan continuamente y típicamente se mantienen calientes por largos períodos de tiempo, con reducción de temperaturas durante las noches o fines de semana para ahorrar energía. Los túneles que emplean calor seco pueden procesar mayores cantidades de viales de vidrio y ampollitas que los esterilizadores por lote. Los túneles operan para esterilizar y despirogenizar contenedores de vidrio. Los túneles de esterilización continua tienen la ventaja sobre los esterilizadores por lote en tener la capacidad de procesar solamente los contenedores de vidrio que son necesarios para la producción del lote, porque el tiempo de procesamiento es relativamente corto. Los túneles pueden estar procesando contenedores de manera continua manteniendo alimentada la línea de dosificado. En contraste con los túneles, los esterilizadores por lote tienen grandes tiempos de ciclo para procesar los contenedores; por consiguiente, debe tener un exceso de envases de vidrio procesado para considerar para la rotura en línea y otros problemas del dosificado ^(8,9).

Tabla 5 Diferencias de los equipos utilizados en los procesos de despirogenización por calor seco

HORNO	TUNEL
La distribución de calor depende del tamaño y distribución de la carga. Aumentando el riesgo de obtener una distribución del calor no uniforme.	La distribución uniforme de calor se debe a que mantiene una cortina de aire continua sobre la carga.
Riesgo de contaminación por mal sellado de puertas y manipulación de la carga	Riesgo de contaminación mínima. La carga se recibe directamente del sistema de lavado.
Circulación interna de aire direccionada mediante baffles.	Mantiene un flujo laminar continuo generalmente de arriba hacia abajo.
Temperatura de trabajo: 180-300°C	Temperatura de trabajo: 250-450°C
Tiempo de ciclo: 3 hr	Tiempo de ciclo: 40 - 60 minutos
Proceso estático por lo que se alargan los tiempos del proceso	Proceso continuo por lo que el proceso no se detiene

1.4.1. MECANISMOS DE TRANSFERENCIA DE CALOR

La transferencia de calor se realiza por tres mecanismos básicos: la convección, la conducción y la radiación. La convección es la transferencia de calor por medio del movimiento de un fluido caliente (aire en este caso). La convección puede ser natural en donde el fluido caliente será menos denso y sube mismo que al enfriarse será más denso y bajará, o mecánico, donde un ventilador o bomba se usa para mover el fluido caliente. La conducción es el segundo método de transferencia de calor y se define como la transferencia de energía causada por el intercambio de energía entre moléculas adyacentes. La radiación es la emisión de energía en forma de radiación electromagnética de un cuerpo caliente. Por supuesto que la conversión de radiación es la absorción de energía calorífica por otro cuerpo ⁽¹⁰⁾.

1.4.1.1. CONVECCIÓN

Los esterilizadores que emplean calor seco generalmente usan métodos de calor por convección para incrementar la temperatura del producto. La convección es una forma de transferencia de calor por medio del cual los flujos de calor de un cuerpo a otro se deben a las diferencias de temperatura entre ellos. En el esterilizador el aire es calentado por métodos convectivos pasando a través de la fuente que emite el calor. La energía es transferida de las resistencias al aire. El aire caliente transfiere la energía a los artículos porque estos tienen una temperatura más baja que el aire. La tasa de transferencia de calor (qué tan rápido los artículos se calentarán) está relacionado con el calor específico de los artículos. El aire tiene la desventaja de tener un calor específico relativamente bajo, además, su tasa de transferencia de energía es lenta ⁽¹⁰⁾.

1.4.1.2. CONDUCCIÓN

La conducción de calor consiste del flujo de energía térmica a través de una sustancia con una región de alta a una de baja temperatura. La conducción es otro mecanismo de transferencia de energía llevada a cabo por interacción molecular cuando átomos a temperaturas altas vibran a niveles de energía altos e imparten la energía (como calor) a los átomos adyacentes de niveles bajos de energía. Los materiales adyacentes (tales como el aire que rodea el producto) transferirán la energía del material de alta temperatura al material frío porque los electrones en un estado excitado bombardearán y chocarán con los electrones de energía baja (temperatura baja) del material. La excitación de las moléculas del objeto incrementará el nivel de energía molecular, la cual aumentará su temperatura.

Nuevamente la tasa a la cual la conducción de calor ocurre depende de los materiales involucrados. Una sustancia con alta conductividad térmica es un buen conductor del calor, mientras que uno con una baja conductividad térmica es un pobre conductor de temperatura. Aunque el aire no es considerado como un buen conductor, el contacto del aire caliente con buenos conductores de calor, tales como objetos metálicos, proporcionará una rápida tasa de transferencia calorífica. Los artículos metálicos, como los equipos de acero inoxidable, se calentarán más rápidamente que otros materiales (como el vidrio), por que tienen una gran conductividad térmica ⁽⁸⁾.

1.4.1.3. RADIACIÓN

La radiación es el tercer método comúnmente usado para los procesos de esterilización por calor seco. Los fotones, los cuales son haces de energía concentrada que pueden ocupar diferentes niveles de energía. Los fotones viajan como una onda electromagnética del material emisor al material objetivo. Esta propagación de fotones transferirá la energía térmica al objeto e incrementará la temperatura de su superficie. La radiación puede ser usada como la única fuente de calentamiento de un artículo, o se puede emplear en combinación con los métodos conductivos o convectivos. El calor radiante puede ser distribuido colocando reflectores pulidos sobre los tubos de cuarzo ⁽⁸⁾.

El calor radiante es un proceso por el cual la energía fluye de un cuerpo con alta temperatura a un cuerpo de baja temperatura cuando los cuerpos están separados en el espacio aun cuando exista un vacío entre ellos. El calor es emitido en forma finita o cuantos de energía sin la ayuda de un medio que intervenga ⁽¹⁰⁾.

1.5 TERMOPARES

Un *termopar* es un sensor de temperatura simple, confiable y versátil construido por la unión de dos alambres de diferente composición para formar una “unión de termopar”. Cuando un termopar se conecta a una referencia bien diseñada y se mide un sistema, el rendimiento indicado es una función única de la temperatura de la unión. Entre las características que los hacen tan populares se distinguen las siguientes: simplicidad, rigidez, bajo costo, tamaño físico pequeño, intervalo de medición de temperatura grande (desde alrededor de -270°C hasta 3000°C) y facilidad de medición. Los termopares son los sensores de temperatura más satisfactorios para dirigir estudios de penetración de calor y distribución de temperatura en validación. Mientras que los detectores de temperatura de resistencia (RTDs) son los más satisfactorios como estándar para la calibración de temperatura.

La temperatura es la propiedad mensurable más frecuente usada en procesos industriales y los termopares son los sensores frecuentemente utilizados cuando la temperatura es registrada o controlada. Una de las primeras razones por las cuales son seleccionados los termopares es debido a su fiabilidad y bajo costo en comparación con otros sensores de temperatura que tienen un rendimiento eléctrico similar. Otra excelente razón para el uso de termopares en la medición de temperaturas es que los RTDs o termorresistores son inherentes menos repetible y menos intercambiable en cuanto a las lecturas proporcionadas.

Las inexactitudes en la mayoría de los sistemas de termopares no ocurren en los sensores, estos ocurren en la instrumentación utilizada para medir el rendimiento y en el circuito que conecta los sensores del termopar a los sistemas de medición ^(8,11).

La figura 6 describe un circuito de un termopar simple que consiste de dos conductores externos A y B, los cuales son conectados a una unión donde la temperatura es T_2 . Para simplificar, se asume que el circuito completo tiene un dispositivo de medición de voltaje y que la temperatura es uniforme, T_1 . Se mostrará que bajo esta suposición la diferencia del potencial termoeléctrico es generado solamente en el circuito externo. Si la temperatura del voltaje que mide el dispositivo es

igual a T_1 a través, de las dos terminales a que cada conductor A y B son conectados también deben estar a la temperatura T_1

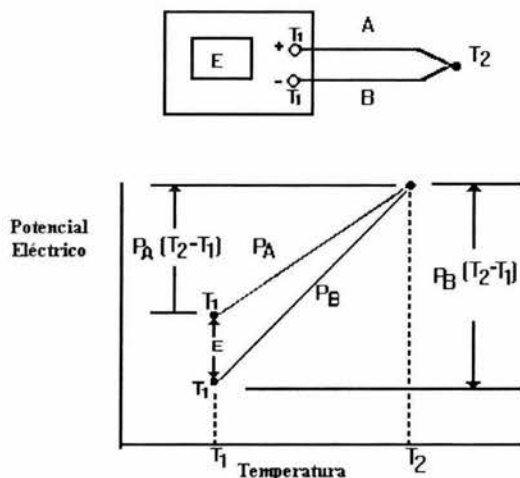


Figura 6. Termopar Básico

La porción inferior de la figura 6 da la representación gráfica del potencial termoeléctrico del circuito mostrado en la parte superior. La ordenada horizontal es la temperatura en un punto dado en el circuito y la ordenada vertical corresponde al potencial termoeléctrico en ese punto. Puesto que el poder termoeléctrico es la cantidad o aumento de energía para un incremento dado de temperatura, la pendiente de cada línea es igual al poder termoeléctrico de ese conductor. Si el poder termoeléctrico es diferente para cada conductor, las pendientes de las dos líneas serán diferentes. Así el potencial de la unión donde los dos conductores se juntan tiene un valor singular.

La figura 6 presenta la diferencia neta del potencial entre las dos terminales medido con el dispositivo para el voltaje.

Considere el nivel de energía de los electrones en los conductores si el circuito inicia en el sentido de las manecillas del reloj, en la terminal donde el material A se conecta al dispositivo que mide el voltaje. Asumiendo que la temperatura T_2 es mayor que la temperatura T_1 , el nivel de energía de los electrones del material A se incrementa en la unión con el material B, por esta causa la temperatura del material se incrementa. Si se supone que el poder termoeléctrico del conductor es constante, la cantidad por la cual la energía se incrementa es igual al poder termoeléctrico del material A, P_A , multiplicado por el cambio de temperatura $(T_2 - T_1)$. Como el circuito se traza desde la unión de los dos conductores a la terminal donde el material B es conectado al dispositivo que mide

el voltaje, el nivel de energía de los electrones disminuirá por una cantidad igual al poder termoeléctrico del material B, P_B , multiplicado por el cambio en temperatura ($T_1 - T_2$).

En este ejemplo, el poder termoeléctrico del material B es mayor que para el material A, así el cambio en el nivel de energía en B será mayor que en A para el mismo cambio de temperatura. Este circuito ilustra de manera simple una característica de los materiales del termopar que causan alguna confusión. Cuando la temperatura de la unión externa es mayor que la de las uniones en el dispositivo que mide el voltaje, el material tiene un poder termoeléctrico mayor y será en el lado negativo. Así el material B, el cual se asume que tiene un poder termoeléctrico en los ejemplos siguientes, la terminal en la cual esta se conecta será en la negativa. Las sumas del circuito se expresan al inicio de la terminal en el cual el material B se conecta y se traza el circuito en sentido contrario a las manecillas del reloj para rendir una diferencia de potencial positiva ⁽⁸⁾.

A) El efecto Seebeck

La diferencia entre los poderes termoeléctricos de dos conductores es conocida como el Coeficiente de Seebeck. El coeficiente de Seebeck de un material siempre se da en función a algún material de referencia. Las evaluaciones tempranas de Peliter, Seebeck y otros condujeron, a las evaluaciones recientes en platino-67 como material de referencia. La tabla 6 presenta los coeficientes de Seebeck aproximados de los termopares más comunes referidos a platino-67, mientras que la tabla 7 muestra los valores correspondientes de los pares de termopares frecuentemente empleados a temperaturas cercanas al punto frío. El coeficiente de Seebeck de cualquier par de conductores es igual a la diferencia de los coeficientes de Seebeck de cada conductor del material individual. Si el coeficiente de Seebeck para el cobre referido a ⁶⁷Pt es $+5.9 \mu V/^\circ C$ y la del constantano es $-32.9 \mu V/^\circ C$, el coeficiente de Seebeck de un termopar doble cobre-constantano (termopar tipo T) es $38.8 \mu V/^\circ C$. Los materiales que tienen un coeficiente de Seebeck positivo referidos a Pt-67 serán de conducción positiva, siendo el cobre un ejemplo de este tipo de conductor ⁽¹¹⁾.

Tabla 6 Coeficientes de Seebeck aproximados para termopares de materiales comunes referidos a Pt-67 a 0.0°C

Nombre del material	ASTM E-20 Código	Composición aproximada	Coefficiente de Seebeck ($\mu\text{V}/^\circ\text{C}$)
Crómelo	EP y KP	90% Ni, 10% Cr	25.8
Fierro	JP	99.5% Fe	17.9
Cobre	TP	100% Cu	5.9
$^{90}\text{Pt}^{10}\text{Rh}$	SP	90% Pt, 10% Rh	5.4
$^{87}\text{Pt}^{13}\text{Rh}$	RP	87% Pt, 13% Rh	5.3
Alumel	KN	95% Ni, 2% Al, 2% Mn, 1% Si	-13.6
Constantano	JN ^a	55% Cu, 45% Ni	-32.5
Constantano	EN y TN	55% Cu, 45% Ni	-32.9

JN es similar a EN y TN pero generalmente tiene una pequeña diferencia en su rendimiento.

Tabla 7. Coeficientes de Seebeck aproximados en pares de termopares comunes a 0.0°C

Nombre del termopar	ASTM E-20 Código	Coefficiente de Seebeck ($\mu\text{V}/^\circ\text{C}$)
Cromelo-Constantano	E	58.7
Fierro-Constantano	J	50.4
Cromelo-Alumel	K	39.4
Cobre-Constantano	T	38.8
Platino- $^{90}\text{Pt}^{10}\text{Rh}$	S	5.4
Platino- $^{87}\text{Pt}^{13}\text{Rh}$	R	5.3

1.5.1 TIPOS DE TERMOPARES

El efecto termoelectrico ocurre cuando un termopar se fabrica de dos materiales disimiles cualesquiera; por lo tanto el número de materiales convenientes para el uso en termopares es muy grande. En muchos casos, los materiales se seleccionan para:

- Maximizar la sensibilidad sobre el intervalo de operación
- Proporcionar estabilidad a largo plazo en los niveles de temperatura superiores.
- Asegurar compatibilidad con la instrumentación disponible
- Minimizar costos.

Se han utilizado muchas combinaciones de materiales para producir termopares, cada una de ellas características especiales. Existen, sin embargo, ocho termopares estandarizados, los cuales se designan mediante una letra (un sistema original de la ISA {Instrument Society of América} y que ahora se usa internacionalmente). El sistema también tiene la ventaja de que evita el uso de nombres comerciales que algunas ocasiones son confusos para los termopares de base metálica ⁽⁸⁾.

A) *Tipo R: Platino-13% rodio/platino*

Frecuentemente se hace referencia a este termopar utilizando la composición química nominal de su termoelemento positivo (RP): platino-13% rodio. El termoelemento negativo (RN) se fabrica de alambre de platino comercialmente disponible, cuya pureza nominal es de 99.99%. El contenido, por peso, debe ser $13.00 \pm 0.05\%$.

La temperatura más alta a la cual puede utilizarse el termopar R esta definida por el punto de fusión del platino, 1768°C. Sin embargo, a 1600°C el platino se vuelve demasiado suave para poder ser utilizado a menos que se tomen precauciones especiales. Lo mismo que con todos los termopares, este limite superior es función del diámetro de los alambres, el medio ambiente y la vida útil que habrá de tener el termopar.

Para un uso prolongado, puede considerarse que el intervalo de temperaturas en el que se utiliza este termopar es de -50°C hasta 1480°C. Dicho limite superior, que es sólo una guía burda para el

usuario, es valido para termopares protegidos con tubos cerrados, hechos con alambre AWG 24 (0.51 mm). No se aplica a termopares con aislamientos de óxidos minerales.

La norma ASTM E230-87 especifica que las tolerancias para la calibración inicial deben ser $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.25\%$ entre 0°C y 1450°C .

B) Tipo S: Platino-10% rodio/platino

Este termopar se desarrollo originalmente por Le Chatelier en 1886. En su investigación pionera el demostró que las principales ventajas del termopar son su reproducibilidad, estabilidad, y su capacidad para realizar las mediciones en temperaturas moderadamente elevadas.

Se hace frecuentemente referencia al termopar S mediante la composición química nominal de su termoelemento positivo (SP): platino-10% rodio el termoelemento negativo (SN) es platino comercialmente disponible cuya pureza nominal es de 99.99 %.

El termopar S puede utilizarse desde -50°C hasta la temperatura de fusión del platino 1768°C . Se puede utilizar intermitentemente hasta esta temperatura y continuamente hasta alrededor de 1300°C , con pequeños cambios en su calibración. El uso continuo a altas temperaturas puede causar un excesivo crecimiento de grano y, como consecuencia, puede volverse muy frágil el elemento de platino puro.

La norma ASTM E239-87 especifica que las tolerancias de la calibración inicial para termopares comerciales tipo S deben ser $\pm 1.5^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.25\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre 0°C y 1450°C es posible tener termopares S con tolerancias especiales de $\pm 0.6^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.1\%$ (cualquiera que sea la mayor).

C) Tipo J: fierro/cromo-níquel

Este es uno de los termopares industriales más comunes debido, sobre todo, a su alto coeficiente Seebeck y su bajo costo. No obstante, este tipo es el menos adecuado para termometría de alta exactitud debido a que hay desviaciones no lineales significativas en la salida termoeléctrica de los termopares fabricados de distintos proveedores. Estas desviaciones hacen muy difícil obtener una buena calibración basada en un número limitado de números de calibración.

El elemento termopositivo es hierro puro comercial (99.5 % Fe), el cual contiene usualmente significativos niveles de impurezas, principalmente carbono, cromo, cobre, manganeso, níquel, fósforo, azufre y silicio. El elemento termonegativo es una aleación de cobre-níquel conocida, de manera un tanto ambigua como constantano. La palabra constantano hace referencia comúnmente, a aleaciones de cobre-níquel que contienen de 45 a 60 % de cobre además de algunas otras impurezas menores como carbono, cobalto, hierro y manganeso.

La norma ASTM E230-87 especifica que las tolerancias de la calibración inicial para termopares comerciales tipo J deben ser $\pm 2.2^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.75\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre 0°C y 750°C . Es posible tener termopares tipo J con tolerancias especiales que son aproximadamente iguales a la mitad de las tolerancias recién mencionadas. No se especifican tolerancias para termopar J por debajo de 0°C o por arriba de 750°C .

D) Tipo K: níquel-cromo/níquel-aluminio

El termopar tipo K fue desarrollado en 1906. Era conocido originalmente como termopar tipo cromel-alumel.

Este tipo de termopar es más resistente a la oxidación a elevadas temperaturas que los tipos E, J o T, y, por tanto es el preferido para mediciones por encima de 500°C . El termoelemento positivo, KP, que es el mismo que el EP, es una aleación que contiene típicamente 89 % al 90% de níquel, de 9% a 9.5 % de cromo, 0.5% hierro y silicio, además de pequeñas cantidades de otros elementos como carbono, manganeso, cobalto y niobio. El termoelemento negativo, KN, está compuesto típicamente por 95 % a 96 % de níquel, 1% a 1.5 % de silicio, 1% a 2.3 % de aluminio, 1.6% a 3.2% de manganeso, hasta alrededor de 0.5 % de cobalto y pequeñas cantidades de otros elementos tales como hierro, cobre y plomo.

La ASTM recomienda el uso de los termopares tipo K dentro del intervalo de 250°C a 1260°C en atmósferas oxidantes e inertes. Tanto el termoelemento negativo como el positivo son propensos al deterioro por oxidación cuando se usan en aire por encima de alrededor de 750°C , pero aun así es posible utilizarlos hasta temperaturas de 1350°C , por cortos periodos con pequeños cambios en su calibración.

La norma ASTM E230-87 especifica que las tolerancias de la calibración inicial para termopares comerciales tipo K deben ser $\pm 2.2^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.75\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre 0°C y 1250°C , y $\pm 2.2^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 2\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre -200°C y 0°C . Es posible obtener, para el intervalo 0°C y 1250°C , termopares K con tolerancias especiales que son aproximadamente iguales a la mitad de las tolerancias recién mencionadas.

E) Tipo T: cobre/cobre-níquel

Este tipo de termopar es uno de los más viejos y de los más populares para la determinación de la temperatura en el intervalo del punto triple del neón ($-248.5939^{\circ}\text{C}$) hasta alrededor de 370°C . El termoelemento positivo TP es usualmente cobre de alta conductividad eléctrica y bajo contenido de oxígeno cuya pureza es de alrededor de 99.95% con un contenido de oxígeno que varía de 0.02 al 0.07% (dependiendo del contenido de azufre), y de alrededor de 0.01% de otras impurezas. Por encima de alrededor de -200°C las propiedades termoeléctricas de los termoelementos son excepcionalmente uniformes y exhiben pocas variaciones de lote a lote siempre y cuando el material tenga la composición química listada anteriormente. Por debajo de alrededor de -200°C las propiedades termoeléctricas se ven más fuertemente afectadas por la presencia de metales de transición especialmente hierro.

El termoelemento negativo, TN o EN, es una aleación de cobre-níquel conocida, ambiguamente, como constantano. Dicha aleación es también conocida como advance y cupron, nombres de marcas registradas. El constantano utilizado para el termopar T usualmente contiene alrededor de 55% de cobre, 45% de níquel, y cantidades pequeñas (0.1% aproximadamente) aunque muy significativas desde el punto de vista termoeléctrico, de cobalto, hierro y manganeso.

En una investigación llevada en el NIST (anteriormente NBS), se estableció que el termopar tipo T puede utilizarse hasta temperaturas de helio líquido (aproximadamente 4°K) pero que su coeficiente Seebeck se hace muy pequeño por debajo de 20°K (aproximadamente $5.6\ \mu\text{V}/^{\circ}\text{K}$), que es casi dos terceras partes del correspondiente para el termopar tipo E. La homogeneidad termoeléctrica de la mayoría de los termoelementos positivo y negativo es razonablemente buena.

Sin embargo se presenta una variación considerable en las propiedades del termoelemento positivo por debajo de 70°K causada por variaciones en las cantidades y tipos de impurezas presentes. La alta conductividad térmica del termoelemento positivo (cobre) puede causar algunos problemas durante la realización de mediciones muy precisas. Por estas razones, el termopar tipo T no es adecuado para mediciones por debajo de 20°K.

La ASTM recomienda el uso del termopar tipo T en el intervalo de temperatura de -200 a 370°C en ambientes inertes, reductores, oxidantes, o en vacío. El límite superior sugerido para el uso continuo de termopares tipo T es 370°C para termoelementos hechos con alambre AWG14(1.63 mm); Debido a que el termoelemento positivo se oxida rápidamente por encima de esta temperatura. No obstante, las propiedades termoeléctricas de los termoelementos positivos no se afectan aparentemente, de manera importante por la oxidación, según muestran investigaciones desarrolladas por el NIST donde se detectaron cambios despreciables en la tensión termoeléctrica del termoelemento positivo hechos con alambre AWG 12, 18, 22 luego de un calentamiento a 500°C por 30 horas. A esta temperatura los termoelementos negativos tienen una buena resistencia a la oxidación y exhiben únicamente pequeños cambios en la tensión cuando se calientan en aire por largos periodos. Pueden establecerse temperaturas de operación mayores, superiores a 800°C, en atmósferas inertes en donde el deterioro del termoelemento positivo no constituye un problema. No se recomienda el uso del termopar T en atmósferas ricas en hidrógeno por encima de 370°C, dado que el termoelemento positivo puede volverse quebradizo.

La norma ASTM E230-87 especifica que las tolerancias de la calibración inicial para termopares comerciales tipo T deben ser +/- 1°C ó +/- 0.75 % (cualquiera que sea la mayor) entre 0°C y 350°C, +/- 1°C ó +/- 1.5 % (cualquiera que sea la mayor) entre 200°C y 0°C. Es posible obtener termopares tipo T con tolerancias especiales que son aproximadamente iguales a la mitad de las tolerancias recién mencionadas. Normalmente los materiales que se obtienen para la fabricación de termopares satisfarán las tolerancias especificadas para temperaturas por encima de 0°C, sin embargo dichos materiales pueden no satisfacer las tolerancias especificadas para el intervalo que va de -200 °C a 0°C.

El límite superior sugerido, 370°C, es válido para termopares protegidos con tubos cerrados, hechos con alambre AGW 14 (1.63 mm). Para alambres de menor diámetro, el límite superior desciende a 260°C para AWG20 (0.81 mm), 200°C AWG 24 ó 28 (0.51 ó 0.33mm), y 150°C para AWG 30 (0.25 mm).

F) Tipo E: níquel-cromo/cobre-níquel

Este tipo de termopar no tiene una historia bien documentada. Para este tipo, así como para los otros tipos que utilizan metales básicos, no existe una norma que establezca la composición específica. El termoelemento positivo es idéntico al del termopar K, en tanto que el negativo es igual al del tipo T.

Ambos brazos del termopar tienen una conductividad térmica relativamente pequeña, buena resistencia a la corrosión en ambientes húmedos, y homogeneidad relativamente buena. Por las tres razones anteriores y sus relativamente grandes coeficientes Seebeck, se ha encontrado que el termopar E es el más adecuado, entre los termopares designados con letra, para la medición de temperaturas criogénicas. Para mediciones por debajo de 20°K se recomienda el uso del termopar KP/Au-0.07 Fe, el cual no tiene designación por letra.

El termopar E tiene, también, el mayor coeficiente Seebeck por encima de 0°C de cualquiera de los termopares designados por letras. Esta es una de las razones por las que se prefiere su uso siempre que sea posible.

El intervalo recomendado por la ASTM es de -200°C a 900°C en atmósferas oxidantes o inertes. En caso de que se use por periodos prolongados por encima de 500 °C se recomienda construir el termopar utilizando alambres gruesos, debido a los elevados niveles de oxidación que se producen a elevadas temperaturas. No debe usarse este termopar en altas temperaturas en ambientes sulfurosos, reductores o en los que se alternen condiciones reductoras y oxidantes a menos que se halle adecuadamente protegido.

En la norma ASTM E230-87 especifica que las tolerancias de la calibración inicial para termopares comerciales tipo E deben $\pm 1.7^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.5\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre 0°C y 900°C , y $\pm 1.7^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 1\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre -200°C y 0°C . Es posible obtener termopares tipo E con tolerancias especiales de $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.4\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre 0°C y 900°C y $\pm 1^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.5\%$ (cualquiera que sea la mayor) entre -200°C y 0°C .

G) Tipo B: platino-30% rodio/ platino-6% rodio

Este tipo de termopar fue desarrollado durante los primeros años de la década de los 50's por Degussa en Hanau, Alemania. Llamado originalmente termopar "PtRh18", fue utilizado para medir temperaturas en el intervalo de 1200 a 1800°C .

Se acostumbra a hacer referencia a este tipo utilizando la composición química nominal de sus termoelementos: platino-30% rodio/platino-6% rodio o "30-6". El termoelemento positivo contiene típicamente $29.60 \pm 0.2\%$ de rodio, en tanto que para el negativo este contenido es de $6.12 \pm 0.02\%$ de rodio. Burns y Gallagher han calculado que un cambio de 0.1% en el contenido de rodio en termoelemento negativo produce un cambio correspondiente en la tensión del termopar de aproximadamente $15\ \mu\text{V}$ a 1500°C . en contraste, un cambio de solamente 0.01% en el contenido de rodio en el termoelemento negativo, también, produce un cambio de $15\ \mu\text{V}$ a esa misma temperatura. En ambos casos, un decremento en el contenido de rodio disminuye la tensión termoeléctrica con respecto al platino.

La norma ASTM E230-87 especifica que la tolerancia en la calibración inicial para el termopar comercial tipo B es de 0.5% en un intervalo entre 870°C y 1700°C . Es posible termopares especiales con una tolerancia de $\pm 0.25\%$, no se especifican las tolerancia para este termopar por debajo de 870°C .

Se ha demostrado que los termopares hechos de aleaciones de platino-rodio son adecuados para mediciones confiables de altas temperaturas. Posee, además, las siguientes ventajas sobres los R y S cuando se utilizan altas temperaturas:

-
- mejor estabilidad
 - mejor resistencia mecánica
 - mayores temperaturas de operación

La temperatura máxima de operación está determinada por el punto de fusión del termoelemento platino-6% rodio, aproximadamente 1820 °C. Investigaciones realizadas por Burns y Gallagher indican que el termopar 30-6 puede utilizarse intermitentemente (por varias horas) a temperaturas de hasta 1790 °C y continuamente (varios cientos de horas) a temperaturas de hasta 1700 °C con pequeños cambios en su calibración.

H) Tipo N: níquel-cromo-silicio/níquel-silicio

Este es el más reciente de los termopares designados por letra. Fue desarrollado durante los últimos años de la década de los 60's y los primeros de los 70's, este termopar fue denominado originalmente Nicrosil-Nisil. Durante la investigación inicial de estas aleaciones se demostró que podría obtenerse una mejor estabilidad ambiental en los termopares hechos de aleaciones de níquel, incrementado las cantidades de silicio y cromo. El efecto que se provoca es una transición desde el modo interno de oxidación al modo externo. La oxidación en estas condiciones ocurre principalmente en la superficie y, al formarse las capas protectoras de óxido, se evita que el material se oxide adicionalmente.

Las características principales de este tipo son las de proporcionar una alta estabilidad termoeléctrica en aire por encima de 1000°C, y poseer una mejor resistencia a la oxidación que los termopares E, J y K. El termoelemento es una aleación que contiene típicamente cerca de 84% de níquel, de 14 a 14.4% de cromo, de 1.3% a 1.6% de silicio, además de pequeñas cantidades (usualmente menores al 0.1%) de otros elementos tales como magnesio, fierro, carbono y cobalto. El termoelemento negativo, NN, es una aleación que contiene típicamente cerca del 95% de níquel, de 4.2 a 4.6% de silicio, de 0.5 a 1.5% de magnesio, además de pequeñas cantidades de fierro, cobalto, manganeso y carbono totalizando entre 0.1 y 0.3%.

Las características del termopar N lo hacen adecuado para trabajar en ambientes oxidantes o inertes. El límite superior máximo de temperatura a la cual puede usarse este termopar está definida por las temperaturas de fusión de sus termoelementos, que son nominalmente 1410°C para el termoelemento positivo y 1340°C para el termoelemento negativo. El límite superior sugerido, 1260°C, es válido para termopares protegidos con tubos cerrados, hechos con alambre AWG 8 (3.25 mm), decrece a 1090°C para AWG 14 (1.63 mm), 980°C para AWG 20 (0.81 mm), 870°C para AWG 24 ó 28 (0.51 ó 0.33 mm), y 760°C para AWG 30 (0.25 mm). No se aplica a termopares con aislamientos de óxidos minerales.

La norma E230-87 de las ASTM especifica que la tolerancia en la calibración inicial para el termopar comercial tipo N debe ser $\pm 2.2^\circ\text{C}$ ó $\pm 0.1\%$ (cualquiera que sea mayor) entre 0°C y 1250°C. Es posible obtener termopares especiales con una tolerancia aproximada a un medio de la tolerancia típica especificada.

1) Otros tipos de termopares de metales básicos

Existe una variedad muy grande de otras combinaciones de aleaciones para termopares, las cuales han surgido de la necesidad de contar con medios para medir temperaturas en ambientes particulares. Mención especial merece el caso de la industria nuclear en donde se requieren termopares que tengan muy buena estabilidad a largo plazo en presencia de flujos de neutrones.

a) Termopares para altas temperaturas

No existen termopares que puedan funcionar en atmósferas oxidantes a temperaturas por encima del límite superior de los de platino-rodio. Bajo tales condiciones no es posible medir temperaturas utilizando termopares, por lo que se debe recurrir a uso de la pirometría óptica o de la termometría de ruido.

Por otro lado, si la atmósfera no es oxidante, se tiene la posibilidad de hacer mediciones de temperatura utilizando aleaciones de tungsteno-rodio las cuales han mostrado un buen desempeño a temperaturas tan altas como 2750°C, y que pueden ser utilizadas, por cortos periodos, a 3000°C.

Dichas aleaciones, que pueden ser usadas en atmósferas inertes de alta pureza, de hidrógeno en vacío, son:

- W-26% Re/W
- W*-3% Re/W-25% Re
- W*-5% Re/W-26% Re

El asterisco indica que el tungsteno contiene pequeñas cantidades de otros metales. Estos metales se incluyen con la finalidad de limitar el crecimiento del grano, que, de ocurrir, ocasionaría que el termopar se volviera muy frágil a temperatura ambiente luego de que se calentara a temperaturas por encima de 1200°C.

Se recomienda que antes de utilizar un nuevo termopar este sea recocido, en atmósfera inerte a una temperatura de 2100°C, por periodos que varían de 1 h para W-3% Re a algunos minutos para W-25% Re, con la finalidad de estabilizar el tamaño del grano. Este recocido reduce, también, la velocidad de formación del compuesto intermetálico de fase σ en la aleación W-25% Re. Este compuesto se precipitará en la sección del termopar que fuese mantenida a temperaturas en el intervalo de 800°C a 1300°C

b) Termopares para bajas temperaturas.

La selección de los alambres para bajas temperaturas debe ser mucho más cuidadosa que en el caso de las altas temperaturas, debido a que se incrementa la dependencia de la termopotencia con la presencia de impurezas e inhomogeneidades (a bajas temperaturas son más significativos los mecanismos de dispersión fonónica, contrariamente de lo que ocurre a altas temperaturas a las cuales la termopotencia es una función exclusivamente de la dispersión electrón-red). Asimismo, la termopotencia a bajas temperaturas es generalmente muy pequeña por que las fem. espurias originadas por las inhomogeneidades pueden causar severos problemas.

Existen, no obstante, aleaciones cuya termopotencia se mantienen en valores relativamente altos. Dichas aleaciones exhiben el llamado efecto Kondo en la dispersión de electrones de conducción por el momento magnético del constituyente menor, usualmente fierro o cobalto. Es posible obtener, en

tales termopares, termopotencia relativamente altas en el intervalo de 1 K a 300 K. En la rama positiva del termopar es usualmente una aleación cuya conductividad térmica es baja y cuya termopotencia es pequeña, tal como Ni-Cr o Ag-0.3 % Au. El constituyente menor con mejor desempeño desde el punto de vista de la estabilidad termoeléctrica es el fierro. Anteriormente se utilizaban aleaciones de cobalto, pero en ellas se presentan, a temperatura ambiente, cambios estructurales que modifican el valor de la potencia termoeléctrica. La cantidad de fierro puede ir de 0.02 a 0.07% atómico.

La concentración de fierro en la aleación a Au/Fe depende del uso que se le dará al termopar. Es importante considerar la dependencia de la termopotencia del termopar con campos magnéticos debido a que, frecuentemente, en las mediciones de baja temperatura se hallan presentes. Similarmente, dado que a bajas temperaturas, la termopotencia es un resultado de la dispersión por impurezas magnéticas en el oro, la concentración del fierro puede modificarla grandemente en presencia de campos magnéticos ⁽¹¹⁾.

1.5.2 TERMOPARES DE TEMPERATURA DE REFERENCIA

Es importante establecer una temperatura de referencia exacta en la unión. Cualquier diferencia entre la temperatura de la referencia real y el valor normal produce un error que es igual a la diferencia de temperatura multiplicada por el coeficiente de Seebeck en la temperatura de referencia. El punto de hielo ha sido escogido como la temperatura de referencia “estándar” porque es un valor conocido de temperatura que puede establecerse con bastante precisión con esfuerzos relativamente mínimos.

A) Baños de Hielo de Referencias

La siguiente figura representa un circuito ideal de un termopar donde un par de conductores continuos y homogéneos se extienden desde la unión de medida a las otras uniones de cobre. Las uniones de cobre se sumergen en un baño de hielo y son llamadas uniones de referencia del circuito (ver figura 7). Las uniones de referencia deben insertarse a una profundidad suficiente en el baño para evitar errores en la conducción.

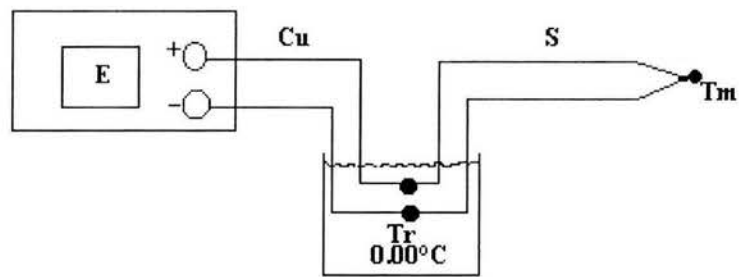


Figura 7. Circuito de un termopar con referencia ideal

La temperatura del baño de hielo debe ser $0.00 \pm 0.01 \text{ }^\circ\text{C}$ si los procedimientos siguientes se cumplen:

- a) Usar un frasco dewar de por lo menos 10 pulgadas de profundidad y 4 pulgadas de diámetro
- b) Picar finamente hielo obtenido de agua destilada.
- c) Llenar el frasco dewar completamente con el hielo picado y llenar el espacio vacío formado entre las partículas de hielo con agua destilada.
- d) Insertar el termopar conductor dentro de la parte central del baño a una profundidad de por lo menos 4-8 in, dependiendo del tamaño del alambre.
- e) Permitir aproximadamente 30 min. para que el hielo y el agua lleguen al equilibrio térmico.
- f) Homogeneizar el hielo inferior del frasco dewar y remover el exceso de agua y después agregar hielo finamente picado para mantener una cama empacada de hielo con los espacios vacíos llenados por el agua.
- g) Repita el inciso f si se requiere.

B) Referencias Automáticas

Mientras que la mezcla de hielo y agua en un frasco dewar es una referencia ideal, no es muy práctico fuera del laboratorio. Una excelente alternativa al frasco dewar es un baño de hielo automático que mantiene una mezcla de hielo y agua en una cámara sellada a través de un regulador termoeléctrico. Los orificios de inmersión se extienden dentro de la cámara y las uniones de la referencia del circuito del termopar se insertan hasta el fondo de los orificios. Su uso va de acuerdo

con las condiciones de operación que recomienda el fabricante. La temperatura de la referencia proporcionada por el baño de hielo automático es típicamente $0.00 \pm 0.3^\circ\text{C}$.

En muchas aplicaciones no es conveniente que las uniones de la referencia se construyan con cada conductor del termopar. Los baños de hielo automáticos están disponibles con termopares de referencia conectados a terminales las cuales se conectan a termopares externos. La figura 8 representa un circuito que usa este tipo de referencia. Cada par de “entradas” es para un tipo específico de termopar. Los alambres internos del mismo tipo del de las uniones de referencia son de cobre y se mantienen a 0.00°C en el baño de hielo. Las conexiones cobrizas de las uniones de referencia son conectadas a las terminales de la referencia.

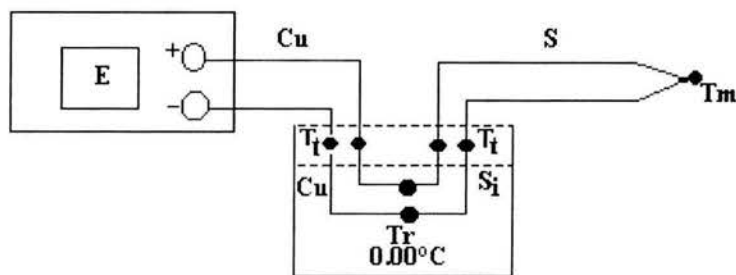


Figura 8. Circuito de un termopar con referencia que tiene un termopar interno.

C) *Termopar compensador*

En muchas aplicaciones industriales la medida de temperatura, incluso en baños de hielo automáticos con termopares de referencia no pueden ser prácticos. Los baños de hielo automáticos son caros y no operan fiablemente a temperatura ambiente o por abajo de 0.00°C y por alrededor de los 40°C . Todos los instrumentos y sistemas que se venden hoy para medir la temperatura mantienen un circuito electrónico para determinar la temperatura de las terminales a las cuales los termopares están unidos. Un voltaje de la referencia apropiado es agregado por el sistema producido por un termopar externo. Versiones recientes llaman a tales circuitos compensador (ver figura 9), porque ellos compensan el hecho de que las terminales a las cuales son conectados los termopares cuando no están a la temperatura del punto de hielo.

El compensador produce un voltaje que es una función de la temperatura terminal. Un compensador típico es un puente de resistencias con un resistor sensible de temperatura instalado cerca de las terminales de los termopares. El puente se ajusta para tener un rendimiento cero cuando la temperatura del resistor es 0.00°C y así producir el voltaje apropiado para un tipo de termopar específico a una temperatura ambiente normal. El voltaje del compensador se agrega al voltaje producido por el termopar y el voltaje total es medido por un dispositivo que mide voltaje.

Un compensador perfecto tendría un rendimiento igual al que sería producido por un termopar externo cuando las uniones de la referencia están al punto de hielo y la medida en la unión es la temperatura terminal.

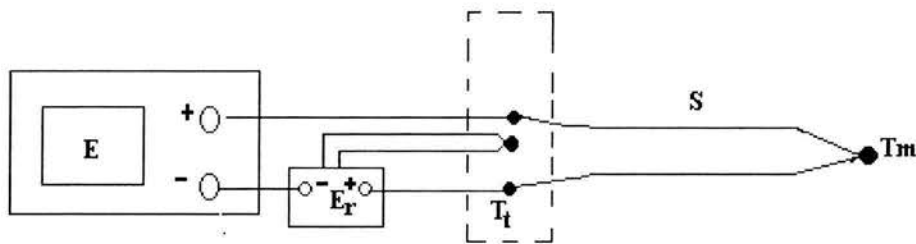


Figura 9. Circuito de un termopar con compensador

D) Sistemas Multicanales de Termopares

En los sistemas multicanales más viejos, la compensación del voltaje se agrega eléctricamente. Cuando la compensación del voltaje se agrega eléctricamente el rendimiento de un escáner de punto múltiple, todos los termopares en el grupo deben ser del mismo tipo. El compensador debe diseñarse para producir el rendimiento requerido para que un termopar dado sea ajustable en calibración y equilibrar el coeficiente de Seebeck del termopar externo.

Los sistemas de medida modernos con termopares multicanales usan informática digital y tienen la capacidad de adicionar la compensación de voltaje adecuado para medir un rendimiento moderado del termopar. En lugar de adicionar la compensación de voltaje eléctricamente, la temperatura de las terminales es medida por un sistema de datos y valores que están almacenados en la memoria.

Cuando un canal es programado como entrada para un termopar, el sistema automáticamente computa la compensación de voltaje apropiada para ese tipo de termopar, el voltaje adicionado es medido, y convertido el voltaje total a la temperatura correspondiente.

Si el voltaje de referencia del sistema se agrega eléctricamente o matemáticamente, es basado en una sola medida de la temperatura terminal, la cual puede ser diferente de la temperatura de cada par individual de las terminales del grupo.

Si la temperatura terminal real en la cual los termopares están unidos es diferente de la temperatura terminal medida por el sistema, un error se introduce que es igual a la diferencia de temperatura multiplicada por el coeficiente de Seebeck y por la temperatura terminal.

E) Fuentes y tipos de error

El diccionario define a la exactitud como la ausencia de error, pero la exactitud es un término que tiene muchos significados diferentes. Cualquier discusión de exactitud de medida de temperatura debe enfocar las varias fuentes y tipos de error. En una instalación típica de un termopar, las tres fuentes primarias de error son los sensores del termopar, el circuito que conecta a los sensores del termopar al sistema de medición y el propio sistema de medición.

Una discusión de error y exactitud es importante para distinguir entre la exactitud relativa y la exactitud absoluta. La exactitud relativa es el grado al que pueden compararse medidas de temperatura en situaciones diferentes o es el grado al que la medida de una sola temperatura se repite. La exactitud absoluta es el grado al que una medida da el valor termodinámico absoluto de temperatura. En muchos procesos la exactitud relativa es suficiente, pero en el proceso de esterilización térmica la exactitud absoluta es esencial.

La velocidad a la que se destruyen los microorganismos es una función importante de la temperatura, a un tiempo dado para obtener productos estériles. Si el verdadero valor de temperatura esta por abajo del valor indicado, la esterilización resulta impropia.

Otra importante distinción que se hace son los de errores sistemáticos y errores al azar. Pueden eliminarse errores sistemáticos de los resultados finales por calibración, pero los errores al azar sólo pueden ser minimizados por la selección apropiada e instalación de los instrumentos de medición

adecuada. La falta de intercambiabilidad, conformidad y uniformidad produce errores sistemáticos, pero las regiones no homogéneas en el circuito y la falta de repetibilidad producen errores al azar.

a) Errores de Sensor y Circuito

En sistemas de termopares es difícil de observar y distinguir claramente entre los errores del sensor y errores del circuito, porque un termopar es un integrador total de los cambios de temperatura medidos por su unión a la unión de referencia. La conformidad y la intercambiabilidad generalmente son características atribuidas a los sensores, los efectos de no homogeneidad son atribuidos al circuito.

b) Conformidad Patrón

El error de conformidad es la diferencia entre el voltaje real producido por un termopar y el voltaje del rendimiento normal para un tipo de termopar medido a la misma temperatura. Se asume que las uniones de la referencia en el circuito del termopar están a 0.00 °C. Se especifica a menudo el error máximo de conformidad que los termopares pueden tener y a pesar de eso son aceptadas como estándares industriales. Para un termopar tipo T (cobre-constantano), el mayor error es de $\pm 1.0^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.75\%$. Para el tipo especial de termopares tipo T el mayor es de $\pm 0.5^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.4\%$. Los termopares de calidad seleccionados proporcionan para los instrumentos Kaye tienen un error de conformidad máximo de $\pm 0.25^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.2\%$ a 120 °C.

Debe darse énfasis a que el error de conformidad no es indicativo del error de la medida total en cualquier instalación. Los errores de conformidad pueden ser eliminados por calibración en varias temperaturas por arriba del rango de operación, y hay muchos otros errores del sistema que pueden ser más grandes que el error de conformidad.

c) Intercambiabilidad

El grado al cual varios termopares tienen un mismo rendimiento medido a la misma temperatura, es conocido como intercambiabilidad del termopar. La intercambiabilidad es muy importante para comparar dos temperaturas en un sistema descalibrado. Cuando varios termopares son hechos del mismo lote de producción de alambres el error de intercambiabilidad máximo es típicamente no mayor a $\pm 0.1^{\circ}\text{C}$ ó $\pm 0.1\%$.

Los errores de conformidad, los errores de intercambiabilidad pueden ser eliminados por calibración. En ambos casos es a menudo suficiente calibrar los sensores a dos temperaturas extremas del rango de operación y hacer una corrección lineal en la medición. Si el sistema de medición no presenta la capacidad de hacer correcciones de calibración de manera individual para cada entrada, el error de intercambiabilidad se vuelve una consideración importante y todos los termopares utilizados en esa ocasión deben fabricarse con el mismo lote de alambre.

d) Regiones no Homogéneas

El poder termoeléctrico de un conductor esta en función de la composición y estructura del material. La mayoría de los conductores del termopar son aleaciones de varios elementos. Entre los materiales para termopares más frecuentemente empleados, solo el cobre y platino son esencialmente puros, incluso el alambre cobrizo debe verificarse para saber si efectivamente tiene las características apropiadas. El coeficiente de Seebeck del termopar variará ligeramente entre cada lote fabricado debido a las variaciones en composición y templado. El templado afecta el poder termoeléctrico porque altera la estructura del conductor. Así también el poder termoeléctrico de un conductor puede cambiar ligeramente si se enfatiza al punto de distorsión permanentemente. El fenómeno es conocido como cambios fríos de funcionamiento del poder termoeléctrico así como las características físicas del metal.

Cuando el circuito de un termopar es construido con alambre homogéneo desde la unión de medición a las terminales del sistema medido, la calibración puede eliminar la mayoría de los errores asociados a los sensores y al circuito. Pruebas han demostrado concluyentemente que el rendimiento de una longitud homogénea del alambre del termopar solo depende del cambio total de la temperatura de un extremo a otro; la localización del cambio a lo largo del alambre no es importante. Esta característica es sumamente importante en sistemas calibrados, porque la localización del gradiente (cambio) en el alambre durante el funcionamiento, generalmente será diferente a la localización del cambio (gradiente) durante la calibración.

Finalmente hay que considerar dos fuentes por las que se introducen porciones no homogéneas a los circuitos de termopares, por un lado los conectores y por otro los dobleces que llegan a sufrir los termopares. Cuando los conectores tienen que ser usados estos deberán ser del mismo material que el

termopar y localizados lejos de las zonas donde se generen los gradientes de temperatura, aun cuando los materiales de los conectores son esencialmente del mismo material que los termopares.

Los continuos dobleces en un mismo sitio del termopar también pueden causar una región no homogénea y por consiguiente causar puntos de funcionamiento fríos, de aquí que sea indispensable evitar doblarlos más de lo necesario.

e) Resistencia del circuito

La resistencia de un circuito termopar no se afecta por el voltaje generado. Las lecturas de resistencia indicadas para termopares industriales son inversamente proporcionales al circuito externo porque se usa un galvanómetro para medir el flujo de corriente en los circuitos como el potencial de voltaje.

Una grieta en el alambre o el pobre contacto eléctrico en los conectores pueden introducir resistencias extremadamente altas en un circuito, afectando la exactitud del sistema de medición de voltaje y dando valores de temperatura errados. El alambre en un circuito puede estar roto, pero puede ayudarse aislándolo.

Cuando el alambre se tiene que extender, las puntas pueden llegar a causar una apertura del circuito; cuando las puntas del alambre están flojas pueden tocar, y nuevamente cerrar el circuito, pero con una resistencia alta en el punto de contacto. La superficie de contacto de cobre en un conector de cobre constantano puede comenzar a oxidarse, de este modo crear una alta resistencia. Si se usa un medidor de ohm para determinar la resistencia de contacto, y quizá indique la fracción de un ohm porque la excitación de voltaje de un medidor de ohm puede romperse con la película de óxido. Con únicamente un pequeño potencial generado por la imposición de un termopar, sin embargo, quizá sea de cientos de Ohms. Si se experimenta lecturas erráticas en un circuito de termopar teniendo un conector, limpiar las conexiones de este y quizá se resuelva el problema ⁽⁸⁾.

1.5.3 PROCEDIMIENTO DE CALIBRACIÓN

El propósito de calibrar cualquier instrumento de medición es asegurar que indicará el valor correcto de la propiedad medible. Para un sensor de temperatura, como un termómetro líquido de vidrio, la calibración puede definirse como el proceso que determina factores de corrección para el sensor por comparación del rendimiento indicado sobre un patrón o norma aceptada a la misma

temperatura. La comprobación del funcionamiento adecuado puede ser verificada en un solo punto, pero la calibración debe hacerse a dos o más puntos.

Los termopares son usados para medir temperatura en la validación de procesos, por lo tanto estos deben calibrarse antes y después de su uso. Típicamente, ni el sistema a medir ni los termopares cambiarán sus características entre la calibración, pero el proceso de calibración asegura el funcionamiento adecuado del sistema. Debido a que las correcciones aplicadas a cada termopar también incluye el error de uniformidad del sistema a medir, cada termopar se debe conectar al mismo canal durante la calibración así como de la operación. A la magnitud posible el sistema entero debe ser calibrado bajo las mismas condiciones de temperatura ambiente y otras condiciones que se experimenten durante la operación.

A) *Fundamentos de calibración*

Existen algunas reglas básicas que deben seguirse en cualquier procedimiento de calibración;

- i. El desafío de todos los resultados. Ninguna sola medida debe ser aceptada como correcta a menos que sea verificada a través de otros resultados. El estándar de referencia utilizado para determinar la temperatura en el baño de calibración podría tener un error. Si dos estándares concuerdan, la probabilidad que ambos tengan el mismo error es extremadamente baja
- ii. Ser paciente. Es frecuente que al calibrar instrumentación, sea necesario tomar medidas y hacer ajustes necesarios a ciertas condiciones para su estabilización. Esto puede tomar más tiempo del esperado para que el sistema esté completamente estable porque el termopar se deteriora exponencialmente y el rendimiento puede parecer estable aunque puede estar cambiado de forma lenta.
- iii. La exactitud del estándar de referencia debe ser mejor que la del instrumento a calibrar. Esto parecería obvio, pero a menudo el calibrador de voltaje que se utiliza tiene un error mayor que el sistema que se está calibrando. Reglas tales como ser 10 veces más exacto o igual a dos veces más exacto, no es absoluto. Esto es solamente importante para reconocer que la exactitud en la calibración puede no ser mejor que la del estándar de referencia y así equivocarse al cambiar o ajustar el sistema a medir si es aproximadamente más exacto que el estándar.
- iv. Las características del estándar de referencia deben ser determinadas por un procedimiento que sea trazable para ser aceptado como estándar interno. En los Estados Unidos, el NIST fue

aceptada como fuente primaria de estándares. El estándar de referencia utilizado debe ser calibrado por el NIST o bien por un laboratorio certificado. En cualquier caso, los resultados de las pruebas y datos deben de conocerse para que el procedimiento de calibración pueda ser trazable.

- v. El estándar de referencia debe ser independiente del sistema a medir. Por que el rendimiento del termopar depende del circuito completo y no de la temperatura deseable para el estándar de referencia. Un detector de temperaturas de resistencia (RTD) es un dispositivo que indica cambios de temperatura por cada cambio de resistencia. Porque la resistencia en el RTD es solamente una función de esta temperatura, y la resistencia puede ser medida independientemente del sistema a calibrar, el RTD es un estándar de referencia de temperaturas ideal.
- vi. Las características del estándar de referencia deben ser estables al ser transportadas o en otras condiciones de manipulación. Como su nombre implica, el propósito del estándar de referencia es transferir una medida característica de un laboratorio a otro. Las características de estándar de referencia deben de ser las mismas que cuando se recibió de NIST así como cuando se calibró. Porque el líquido en termómetros de vidrio puede dañarse o desarrollar pequeñas burbujas en el líquido durante su transporte y esta temperatura en el estándar no es fiable. Los RTD son dispositivos bastante resistentes porque mantienen sus características durante el manejo normal y transporte.

B) Medida del sistema de calibración

El primer paso en la calibración de un sistema de termopares, es verificar el funcionamiento del sistema medido en voltaje y ajustarlo si es necesario. Cada fabricante tiene un procedimiento recomendado que debe seguirse. La precisión de la fuente de voltaje en el nivel más bajo debe tener una exactitud mayor a $\pm 1.00 \mu\text{volts}$ o $\pm 0.01 \%$ en un rango de 0.0 a 20 000 μvolts y debe de emplearse en la calibración del voltaje. El sistema a medir debe repetirse durante varias horas antes de empezar el proceso de calibración para estar seguros de que está completamente estable. Si el sistema es usado como una importante medida de voltaje, una segunda fuente de voltaje debe usarse para verificar los resultados de los ajustes. Si las únicas medidas importantes son las medidas de temperatura del termopar, la calibración de los sensores corregirá cualquier error pequeño de voltaje.

Una vez que el medidor de voltaje de los circuitos ha sido ajustado, el termopar de referencia del sistema debe ser verificado conectando los termopares a las terminales de la entrada adecuada y colocando las uniones en un baño de hielo y permitir de 10 a 15 minutos para estabilizar la temperatura antes de hacer cualquier ajuste.

En un sistema multicanal computarizado cuando el termopar de la entrada terminal mida la temperatura del sistema y sea 0.0°C en la unión del baño de hielo se genera un voltaje negativo. Si la referencia externa se ajusta hasta la temperatura indicada de 0.0°C (32.0°F), el rendimiento de la referencia interna se ajusta para igualar el rendimiento generado por el termopar externo cuando la unión de referencia esta a 0.0°C y su unión está midiendo esta temperatura en la entrada. El termopar externo está generando un voltaje de la misma magnitud. Este procedimiento mantiene la referencia interna y la compensación para el termopar externo perfectos.

La temperatura en la entrada y los coeficientes de Seebeck de cada termopar en un sistema multicanal, puede ser ligeramente diferentes para cada par de termopares, otros termopares conectados al sistema de medición no pueden indicar exactamente 0.0°C cuando la referencia es ajustada. Para una exactitud mayor la referencia interna debe ajustarse con el promedio de las temperaturas indicadas de todos los termopares en el baño de hielo (0.0°C).

El sistema medidor puede programarse para computar el promedio de todos los rendimientos de un grupo de termopares para que el valor pueda ser usado directamente en el proceso de calibración. Debe darse énfasis a que la calibración de la referencia interna es una medida del sistema calibrado y no una calibración del termopar externo ^(8, 12).

1.6 VALIDACIÓN

El notable avance tecnológico de la última década ha dejado sentir su efecto en la industria farmacéutica, debido a la importancia social que reviste su buen funcionamiento, se ha puesto mayor énfasis en el mejoramiento de los sistemas que han conducido hacia una evolución industrial sin precedentes en la producción de medicamentos tanto, desde el punto de vista interno de cada compañía como desde el punto de vista de las dependencias oficiales.

La finalidad de obtener medicamentos cada vez mejores ha sido reforzada por la adopción y práctica de métodos de fabricación reconocidos como correctos y efectivos. Un aspecto de importancia central en el empleo de técnicas y procedimientos de fabricación es la utilización de procesos y sistemas validados por lo que cualquier cambio evolutivo realizado en un proceso de fabricación o en una formulación, no deberá afectar las características de calidad propias del sistema farmacéutico en cuestión. Además es imperativo que un producto pueda ser reproducido lo más exactamente posible, lote tras lote, por lo que será imprescindible operar y controlar a cada equipo de tal forma que efectúe de manera óptima y prescindible el trabajo para el cual fue destinado.

La comprobación y verificación de la efectividad y la reproducibilidad de una técnica, operación o un proceso se ha llamado “validación”.⁽¹³⁾

El concepto de validación fue desarrollado y aceptado en 1978 por Ted Byer, director asociado y colega de la Food & Drug Administration (FDA), definiéndola como sigue:

“Establecer evidencia documentada que proporciona un alto grado de aseguramiento de que un proceso específico producirá un producto que cumple de manera consistente con las especificaciones predeterminadas y atributos de calidad”⁽¹⁴⁾

La organización mundial de la salud (OMS) y la comunidad europea (EC) define por su parte a la validación como el mecanismo por el cual un procedimiento, proceso, equipo, materiales, actividad o sistemas los conduce a resultados predecibles de acuerdo a los principios establecidos en GMP's.

Por otro lado la convención de inspección farmacéutica (PIC) la define como la evidencia documentada para demostrar que un método es aceptable para producir resultados dentro de las especificaciones predeterminadas⁽¹⁵⁾.

Siendo la definición más aceptada la propuesta por la FDA, ya que de acuerdo con su definición la garantía de calidad de un producto se deriva del cuidado y atención de un importante número de factores que incluyen: selección de los componentes (calidad) y materiales, el diseño adecuado del

producto y como consecuencia del proceso y control estadístico del proceso al inicio y al final a través de diversas pruebas. ⁽⁴⁾

La FDA, así como las autoridades regulatorias existentes consideran que es necesario la validación de los procesos, pero ¿qué es la validación de procesos? Antes de contestar esta pregunta es imprescindible primero contestar la siguiente pregunta ¿qué es un proceso? ...

Un proceso es la combinación única de materias primas, equipos y procedimientos ejecutados en conjunto para obtener en consecuencia algún resultado en particular.

Materias primas + equipos + procedimientos → proceso

De esta manera se considera a la validación de un proceso como la ejecución completa de un sistema para obtener el control firme y constante sobre las materias primas, equipos y procedimientos empleados para elaborar un producto en particular. ^(15, 16)

Guías oficiales concernientes a la validación de procesos mencionan tres métodos opcionales para verificar, desarrollar y documentar el proceso, la validación prospectiva, concurrente y la retrospectiva. ⁽¹⁵⁾

Muchas personas piensan que la validación es sólo un paso o la entienden como el final de la secuencia del desarrollo proceso / producto. Algunos creen que el proceso está validado si los primeros dos o tres lotes de producto satisfacen las especificaciones.

La validación prospectiva de un proceso de producción utiliza la información generada durante el desarrollo previo de una secuencia que lleva a un proceso final.

La validación prospectiva es un enfoque más razonable, que hace de la validación una parte integral de una cuidadosa planificación de un programa lógico para el desarrollo del proceso/producto.

Es la evidencia documentada realizada antes de que el producto salga al mercado, que demuestre que las operaciones se encuentran bajo control (aplicable a nuevos productos, reformulaciones o cambios de equipo de proceso). ⁽¹⁷⁾

En ciertas circunstancias en las que la validación prospectiva no puede ser aplicada, la industria ha tenido que adoptar otros tipos de validación como lo es la concurrente. Los productos poco frecuentes, de bajo volumen de fabricación, y los suministros clínicos son áreas en que el uso de este tipo de validación está muy difundida. La validación concurrente es similar a la prospectiva, requiriendo la fabricación de tres lotes, la diferencia entre este tipo de validaciones es que en la

validación concurrente, los lotes están separados por intervalos de tiempo más largos y se liberan individualmente. El proceso no se considera validado hasta que tres lotes se han fabricado usando el mismo proceso, aunque esos lotes pueden ser fabricados de manera secuencial o bien por diferencia de meses (o incluso años).

El enfoque de la validación concurrente se usa cuando los sistemas o procesos están actualmente en uso. Este tipo de validación se realiza durante la producción de rutina de un producto destinado a la venta.

Pero también existen muchos procesos de fabricación que se emplean de manera rutinaria en muchas compañías y que no han sufrido un proceso de validación formalmente documentado. La validación de estos procesos es posible, usando los datos históricos que proveerá la documentación necesaria que muestre la evidencia que el proceso está haciendo lo que debe hacer. Los pasos involucrados en este tipo de validación aún requieren la preparación de un protocolo, el reporte de la revisión de datos, para obtener una conclusión y de ser necesarias algunas recomendaciones.

La validación retrospectiva usa toda la información existente y disponible (la mayor fuente de suministro son los registros de producción, control en proceso, bitácoras de mantenimiento, estudios de capacidad de proceso [CpK], resultados analíticos de producto terminado y resultados de estudios de estabilidad), para demostrar que el proceso ha sido llevado a cabo en forma consistente y satisfactoria con el tiempo basándose en la premisa que el proceso continuará entregando el mismo nivel de calidad histórico en el futuro, que los equipos, materiales y parámetros de proceso no han cambiado. De esta manera la validación retrospectiva se puede definir como la evidencia documentada basada en datos acumulados de producción, análisis y control de que un producto ya en distribución está siendo fabricado con efectividad ⁽¹⁹⁾.

Este tipo de validación únicamente puede ser llevada a cabo para procesos bien establecidos. En la actualidad, se considera también a la revalidación la cuarta posible opción y se define como la repetición de la validación de un proceso en alguna porción específica o bien en las siguientes condiciones.

- Cambio de algún componente crítico (usualmente se refiere a materias primas)
- Cambio o remplazo de alguna pieza vital del equipo
- Cambio de instalaciones de la planta (usualmente de lugar)
- Aumento o descenso significativo en el tamaño del lote
- Si se encuentra un error en las especificaciones del producto y/o proceso de lotes en serie.⁽¹⁶⁾

La FDA sugiere que en lo referente al aseguramiento de la calidad se requiere de la validación cada vez que exista cambios en el envase (incluyendo el envase primario), formulación, equipos o en procesos que afecten la eficiencia del producto o las características del mismo y cada vez que haya cambios en las características del producto.

El concepto de validación es sin duda, el centro de mayores cambios en las normas de buenas prácticas de fabricación, ya que implica poner a prueba al proceso con objeto de determinar sus parámetros óptimos de operación y su metodología de control, para así reproducir eficazmente un producto farmacéutico acorde a las especificaciones de calidad establecidas.

Antes de iniciar las actividades del proceso de validación, será necesario efectuar la evaluación de cada elemento que tenga un impacto directo sobre la calidad del producto final. ⁽¹⁾

El Proceso de Validación se desarrolla en fases sucesivas que permitan evidenciar documentalmente que los elementos que intervienen en los procesos de fabricación están calificados y/o validados, garantizando con esto que los productos elaborados cumplan consistentemente con los estándares de calidad preestablecidos. Para ello cada elemento debe ser tratado de forma independiente y específica.

Los Elementos que integran el Proceso de Validación se describen a continuación:

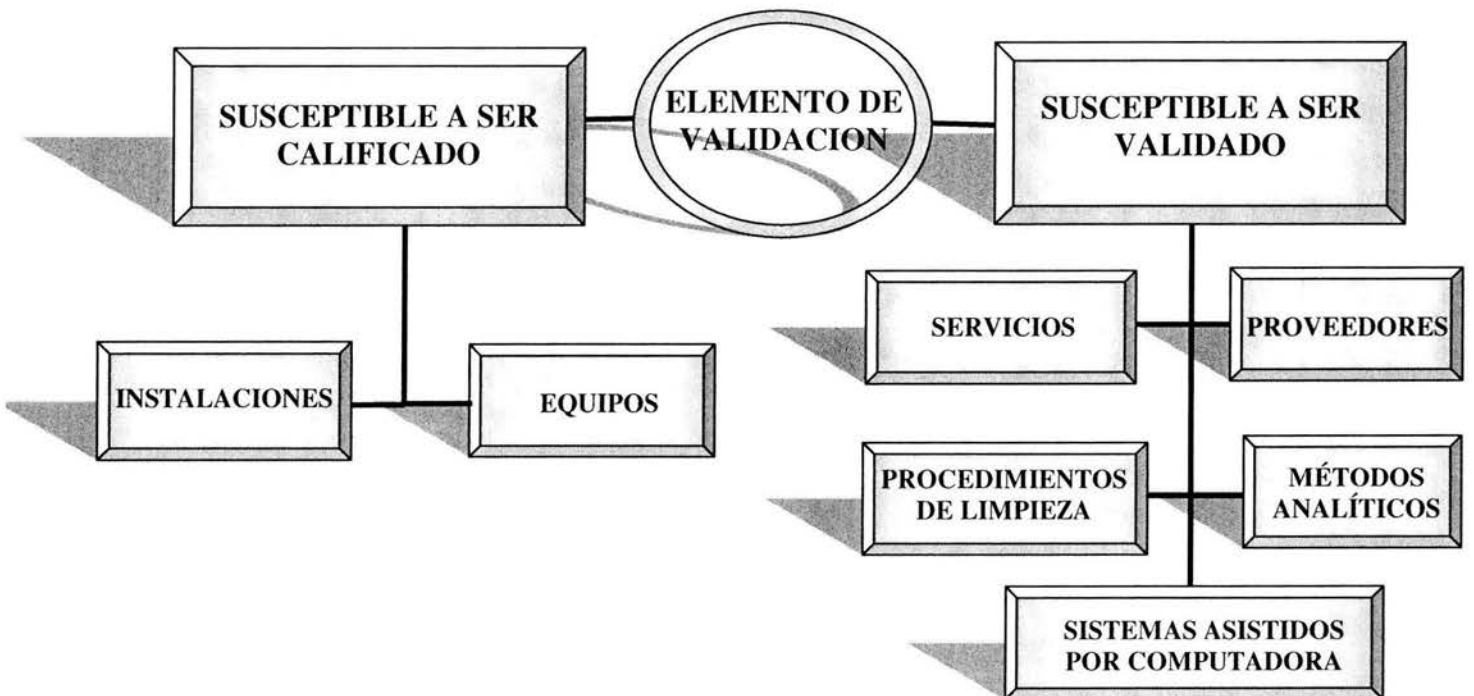


Figura 10. Elementos del proceso de validación

1.6.1 ELEMENTOS DE VALIDACIÓN

A) EQUIPOS

Los Equipos empleados en los Procesos Farmacéuticos deben poseer el diseño y las características (materiales de construcción, acabados, capacidad, parámetros de operación, dispositivos de seguridad, etc.) que permitan la obtención de Productos que cumplan con las especificaciones de Calidad.

Los Equipos deben ser Calificados bajo los lineamientos que permitan evaluar el diseño, construcción, instalación y operación del Equipo a manera de considerarlo calificado para poder emplearse en la fabricación de medicamentos.

B) INSTALACIONES

Las Instalaciones empleadas en los procesos de fabricación (áreas de fabricación), deben calificarse y poseer el diseño así como las características (acabados, dimensiones, dispositivos de seguridad, etc.) que permitan la obtención de Productos que cumplan con las especificaciones de Calidad establecidas.

C) SERVICIOS

Todo servicio empleado en la fabricación de productos deberá poseer el diseño y características (materiales de construcción, acabados, capacidad, parámetros de operación, dispositivos de seguridad, calidad, etc.) que permitan la obtención de Productos que cumplan con las especificaciones de Calidad establecidas.

Se deben describir los procedimientos y los criterios para evaluar el diseño, instalación, operación y desempeño; que nos permitan garantizar que el servicio cumple con las especificaciones establecidas y por lo tanto se considera validado para poder ser empleado en la fabricación de medicamentos.

D) SISTEMAS ASISTIDOS POR COMPUTADORA

Todo Sistema asistido por computadora empleado en la fabricación de productos farmacéuticos debe poseer el diseño y características, que permitan una operación óptima y a su vez que garantice la nula posibilidad de alteración de la información ya sea provocada o por fallas en el propio sistema.

Se debe contar con un plan donde se indique los lineamientos y pasos a seguir para poder evaluar satisfactoriamente tanto el Hardware, Software y la interacción con otros sistemas, a manera de considerarlo confiable para poder emplearse en cada una de las fases de los procesos de manufactura.

E) PROVEEDORES

Los Materiales empleados en las diferentes fases de los procesos de manufactura son de suma importancia para proporcionar la calidad de los productos que son fabricados, los requerimientos de materias primas, materiales de empaque, materiales diversos y/o servicios deben ser claramente especificados establecidos y cumplidos satisfactoriamente por los proveedores de estos insumos.

En el caso específico de que se pretende contar con proveedores validados, a manera de garantizar en primera instancia la calidad de los productos a fabricar y en segunda disminuir las operaciones innecesarias como lo podrían ser re-inspecciones, re-muestreos, etc.

F) METODOS ANALÍTICOS

La Metodología Analítica (detección de pirógenos por LAL) es parte importante del Proceso de Validación ya que alrededor de ella gira la confianza de los resultados obtenidos de todos y cada uno de los análisis efectuados sobre el producto y materiales que lo componen.

G) LIMPIEZA

La Validación de los Procedimientos de Limpieza es parte importante del proceso de validación, ya que con ella se garantiza la mínima posibilidad de tener problemas de contaminaciones cruzadas al cambio de producto en una misma línea o equipo, o durante las actividades de lavado de utensilios de trabajo.

Cada uno de éstos elementos es analizado y evaluado de acuerdo a un plan específico, dichos planes proporcionarán la información necesaria para ejecutar las actividades concernientes a cada elemento, incluyéndose la elaboración de documentos, registro de resultados y parámetros de aceptación.

Todo proceso antes de ser validado requiere que los elementos que lo integran estén debidamente calificados y/o validados ⁽¹⁸⁾.

Por otro lado la calificación se refiere al estudio de las pruebas que demuestran que todos los sistemas y las operaciones unitarias de los procesos de fabricación operan dentro de los límites de control predeterminados. Esto también incluye al personal, equipos, servicios, y sistemas de soporte que se requieren para que los procesos operen de acuerdo a lo planeado y con eficiencia.

La calificación es el proceso que establece la evidencia documentada que los elementos que conforman el proceso de fabricación, han sido instalados y funcionan confiablemente dentro de los

rangos de operación especificados. La Calificación debe ser realizada a las instalaciones, equipos y sistemas que tengan un impacto en la calidad del producto.

La calificación normalmente es llevada a cabo mediante las actividades siguientes:

Calificación de diseño

Calificación de instalación

Calificación operacional

Calificación del funcionamiento

La calificación de diseño (DQ) es la etapa del proceso de validación mediante el cual se verifica de manera formal y sistemática los requerimientos especificados durante la definición de un proyecto.

La calificación de instalación (IQ) Es un proceso documentado por el cual los componentes físicos de un sistema, en el cual se pueden afectar los atributos de calidad o especificaciones del material procesado, son calificados y su instalación ha sido verificada de acuerdo a las especificaciones de su diseño.

De manera concreta la calificación de instalación se define como la etapa del proceso de validación que establece mediante estudios y documentación adecuada que el elemento de validación en cuestión está instalado de acuerdo con sus especificaciones de diseño.

Esta calificación involucra los esfuerzos coordinados del proveedor (fabricante), el departamento de operaciones, y otras disciplinas que intervendrán en la compra, instalación, operación y mantenimiento del elemento.

Dentro del proceso de validación cabe mencionar que la calibración de los instrumentos que forman parte del elemento a calificar juega un papel muy importante dentro la calificación de instalación, (aunque hay quienes prefieren incluir los registros de calibración como parte de la calificación operacional) debido a que mientras no se cuente con los instrumentos calibrados las pruebas en las que se involucren mediciones de los parámetros considerados como críticos carecerán de credibilidad.

La calibración no es más que la comparación de una medida estándar o de un instrumento de exactitud conocida con otro estándar o instrumento de menor exactitud para detectar, correlacionar, reportar o eliminar por medio de un ajuste cualquier variación en la medición al ser comparado.⁽¹⁴⁾

Todos los instrumentos empleados en la validación deben ser calibrados. Todos los instrumentos que sean críticos deben cumplir con lo requerido por la (s) instancia (s) regulatoria (s)

correspondiente (s) ya sea por información recibida a través del laboratorio primario o por contratación de un laboratorio de calibración certificado (generalmente llamado laboratorio secundario). El tiempo de duración entre calibración debe ser determinado por la estabilidad del instrumento, por la precisión y exactitud que se requiera.

Una vez que la calificación de la instalación sea concluida y documentada, se podrá continuar con la calificación operacional. Una vez más, esta calificación al igual que la anterior involucra los esfuerzos coordinados de proveedor (fabricante), del departamento de operaciones, y de otras disciplinas que intervendrán en la operación, utilización de productos o artículos, descripción del proceso, y parámetros de operación críticos.

La calificación operacional (OQ) es un proceso de pruebas que evalúa el arranque del sistema. Es la etapa del proceso de validación mediante el cual se demuestra que el elemento de validación opera de acuerdo a sus especificaciones de diseño. Durante esta fase de prueba los controles son ajustados y las pruebas de funcionamiento se realizan para verificar que el sistema opera conforme a las especificaciones de diseño. La calificación operacional está dirigida para determinar si se cumplen con los parámetros de operación predeterminados asegurando que el producto o artículo procesado posee los atributos de calidad requeridos y cumple con las especificaciones. La calificación del funcionamiento (PQ) se realiza toda vez que la calificación de instalación y la calificación operacional se han concluido, revisado y aprobado.

La calificación del funcionamiento (PQ) describe el procedimiento o procedimientos que demuestran que un sistema o equipo cumpla con especificaciones de operación de rutina y, cuando sea posible, bajo las condiciones del peor caso. En otras palabras es la etapa del proceso de validación y/o calificación mediante el cual se demuestra que el proceso es efectivo y reproducible de acuerdo con las especificaciones de diseño.

La calificación del funcionamiento debe incluir una descripción de los procedimientos preliminares requeridos, las pruebas detalladas del funcionamiento que se realizarán, y el criterio de aceptación para cada prueba. Para llevar a cabo la calificación del funcionamiento es necesario que los servicios usados durante la calificación estén validados (ej. El sistema de vapor debe validarse antes de la validación de una autoclave ^(18, 19)).

Finalmente la certificación se refiere a la función administrativa que lleva a cabo personal responsable calificado para establecer la documentación necesaria que respalde que el evento de validación se llevó a cabo apropiadamente y que los resultados son aceptables. La certificación se

emplea para denotar la aprobación completa de que el proceso de fabricación está validado; y forma parte de la etapa final en el programa de validación. ^(13, 14)

La validación de un proceso típico de fabricación involucra diversas actividades indispensables, dichas actividades deben ser estructuradas en un programa general. Esta organización preliminar se debe desarrollar sobre el tiempo programado. La lista de las actividades depende estrictamente de la naturaleza específica o de la facilidad de la validación ⁽¹⁴⁾

1.6.2. PROTOCOLO DE VALIDACIÓN

Un protocolo es una serie de instrucciones escritas con un alcance mayor que un procedimiento normalizado de operación. Los procedimientos normalizados de operación son las instrucciones detalladas para desempeñar procedimientos de rutina durante el transcurso de cualquier actividad asociada con la manufactura farmacéutica. Un protocolo describe los detalles de un estudio ampliamente planificado para investigar la operación consistente de un nuevo sistema/equipo, un nuevo procedimiento, o la aceptabilidad de un nuevo proceso antes de implementarlo. Los protocolos incluyen información de antecedentes, explicando la base y el objetivo del estudio, dando una descripción completa del procedimiento que ha de seguirse, presentando los parámetros que serán medidos, describen como se analizarán los resultados y proporciona los criterios de aceptación previamente determinados para realizar las conclusiones. Los estudios de validación, estudios de estabilidad y estudios clínicos son algunos ejemplos de protocolos para la industria farmacéutica. Los protocolos de validación son importantes para asegurar que se toma la evidencia documentada la cual demuestra que un equipo, un sistema, un proceso o un método, funciona consistentemente a un nivel especificado ⁽¹⁸⁾.

1.7 VALIDACIÓN DE LOS PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN Y DEPIROGENIZACIÓN POR CALOR SECO

El calor seco es uno de los métodos más comúnmente usados para esterilizar y despirogenizar componentes y productos farmacéuticos. La esterilización por calor seco puede ser empleada para aceites termoestables, ungüentos y polvos pero a menudo es empleado para la despirogenización de contenedores de uso parenteral u otros materiales. El proceso de despirogenización es usado en ciertos componentes estables, recipientes de vidrio, equipos de acero inoxidable, y para obtener el artículo y el producto parenteral final libre de pirógenos. El equipo para proporcionar el calor seco debe ser validado para asegurar que el sistema está habilitado para proveer componentes estériles o despirogenizados basándose en la reproducibilidad. ⁽⁸⁾

El calor seco frecuentemente es el agente de elección para esterilizar artículos que toleran temperaturas relativamente altas, cuando no existe una adecuada penetración del vapor o son dañados por el calor húmedo. El calor seco frecuentemente se emplea para esterilizar artículos tales como polvos, aceites, cristalería, y equipo de acero inoxidable. Los procesos de esterilización por calor seco generalmente son menos complicados que los procesos con vapor, aunque se requieren temperaturas altas y/o largos tiempos de exposición, porque la letalidad microbiana asociada con el calor seco es mucho más baja que para el vapor saturado a la misma temperatura. Sin embargo muchos de los conceptos básicos y métodos desarrollados para la esterilización por vapor también pueden ser adaptados para la esterilización por calor seco.

La validación de los procesos de esterilización por calor seco puede incluir pruebas físicas y biológicas. El procedimiento secuencial puede ser como sigue:

- Verificación de la instalación del equipo
- Verificación del funcionamiento básico del equipo
- Calibración de sensores, monitores y equipo de control
- Verificación de las características termodinámicas de la unidad
- Reto microbiano

-
- Revisión de los datos de prueba

 - Certificación del paquete final de datos.

En algunos casos los procesos por calor seco tienen como objetivo únicamente proveer un método de esterilización, mientras que en otros casos, se desea ambos tanto la esterilización como la despirogenización.

Para los procesos por calor seco diseñados solamente para la esterilización, los parámetros del ciclo establecido están basados en la biocarga de los artículos y sus características de resistencia térmicas. El ciclo es diseñado para asegurar que la probabilidad de supervivencia no es mayor que una célula en un millón de unidades de artículos. Para demostrar esto se emplean microorganismos con alta resistencia térmica (indicadores biológicos).

Para la validación de procesos aplicados a ciclos donde el objetivo es la esterilización y la despirogenización (inactivación de endotoxinas) y donde la despirogenización sea el punto final deseado, es necesario el empleo de temperaturas relativamente altas y/o extender los tiempos de calentamiento. De esta manera, la letalidad microbiana proporcionada por estos ciclos provee un margen de seguridad que excede la probabilidad de no esterilidad de 10^{-6} , debido a que para la destrucción de endotoxinas se requiere temperaturas del orden que van desde los 200°C hasta los 400°C dependiendo de las combinaciones que se tengan en cuanto al tiempo de exposición/temperatura, suficientes para cumplir los requerimientos de inactivación de endotoxinas y más que suficientes para esterilizar los artículos altamente contaminados ⁽³⁾.

En los años 1980s, los ciclos de esterilización por calor seco se definieron como 170°C por no menos de 2 hrs., y los ciclos de despirogenización se definieron a un mínimo de 250°C por no menos de 30 min. Para USP el rango de temperatura para la cámara vacía está definido a 250°C ± 15° C. El rango de temperatura puede aumentarse o disminuirse cuando la cámara se carga ⁽¹⁸⁾.

Sin embargo la clave para la validación de procesos por calor seco es demostrar su repetibilidad. Esto significa que el equipo puede funcionar consistentemente bajo un conjunto de condiciones dadas para generar materiales estériles, libres de pirógenos y libres de partículas. La repetibilidad en los procesos por calor seco obviamente involucra consistencia y repetibilidad en la obtención y

mantenimiento de la temperatura deseada. La temperatura debe alcanzarse en todas las áreas de la cámara. Siempre habrá un área en la cámara que represente un punto frío, que no es otra cosa que un área difícil de calentar a la temperatura requerida. Este punto frío debe identificarse para que en los estudios de validación se incluya su monitoreo con termopares y puedan realizarse retos microbianos en este punto.

Bajo este rubro se puede decir que la ausencia de endotoxinas es la calidad biológica de igual o mayor importancia para la esterilidad de productos farmacéuticos y dispositivos médicos usados para aplicaciones parenterales.

El proceso de calor seco debe calentar el artículo eficazmente y el aire que lo rodea, para alcanzar la esterilización o despirogenización. Aunque hay similitudes entre la validación de los procesos por calor seco y calor húmedo, hay algunas diferencias en los procesos que tienen un énfasis en la validación. En el calor húmedo, la condensación del agua dentro de la cámara libera grandes cantidades de energía calorífica que sirve para calentar los artículos a esterilizar. En los procesos por calor seco, el aire caliente proporciona significativamente menos energía calorífica que un equivalente en volumen de vapor saturado. Porque el aire caliente tiene un bajo calor específico y pobres propiedades de conductividad térmica, teniendo la necesidad de prolongar los periodos de calentamiento a temperaturas más altas que aquellas requeridas por la esterilización por vapor. En los procesos por calor seco, la penetración del aire caliente no se ve favorecida con etapas de prevacío, como es a menudo empleado en la esterilización con vapor húmedo. La carga a esterilizar generalmente es calentada y enfriada lentamente, y tiene una tendencia hacia la estratificación de la temperatura (causando variaciones de temperatura, a menudo mayores de 10°C, durante el ciclo). A pesar de esas limitaciones, el calor seco es el método preferido para esterilizar o despirogenizar sobre el calor húmedo u otros métodos en ciertas instancias específicas. Algunos artículos son idealmente esterilizados utilizando métodos por calor seco. Estos incluyen el vidrio que debe mantenerse seco para el llenado, las superficies de los equipos de acero inoxidable las cuales son difíciles de penetrar con el vapor y los artículos que se pueden corroer con la humedad. Algunos productos (por ejemplo el petrolatum, aceites, vehículos no acuosos, grasa y polvos) son dañados o contaminados por la presencia de agua ^(3, 8, 9).

1.7.1 CINÉTICA DE DESTRUCCIÓN MICROBIANA

La información referida a la cinética de la destrucción de una población bacteriana es esencial para comprender las bases de la esterilización por agentes letales. Para los microorganismos el único criterio válido de muerte es la pérdida irreversible de la capacidad de reproducirse.

Cuando se expone una población bacteriana a un agente letal, con el tiempo tiene lugar una reducción progresiva en el número de sobrevivientes. La cinética de la destrucción de una población microbiana suele ser exponencial, el número de sobrevivientes disminuye en función del tiempo. Si el logaritmo del número de supervivientes se representa como una función del tiempo de exposición se obtiene una línea recta cuya pendiente negativa define la velocidad de destrucción.

Para determinar el número real de sobrevivientes es necesario conocer el tamaño inicial de la población. Esta relación se expresa en forma matemática por la fórmula:

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{B}{b}$$

Donde B es el número inicial de microorganismos y b es el número que queda luego del tiempo t.

Por consiguiente a pesar del tipo de letalidad inducido por los procesos de esterilización a los que se expone la población microbiana, generalmente presenta una cinética correspondiente a las reacciones de primer orden, ya que el logaritmo del número de células viable disminuye en forma lineal en función del tiempo de exposición.

Por lo que la ecuación anterior también se puede escribir como:

$$\log \frac{B}{b} = \frac{kt}{2.303}$$

Donde: B = Número de células viables al comienzo del tratamiento

b = Número que queda luego del tiempo t

k = constante de células viables, dada como el recíproco del tiempo

La fase de extinción (destrucción) depende también de la temperatura, es decir, k cambiará como lo muestra la siguiente ecuación:

$$\frac{dB}{dt} = k \longrightarrow \frac{E_a}{RT}$$

Donde: E_a = Energía de activación

T = Temperatura absoluta

R = constante de gases (1.798 cal/g mol)

La inactivación microbiana por cualquier medio puede ser caracterizada por parámetros físicos y biológicos. Los parámetros físicos son una medida del proceso de esterilización que pueden ser rutinariamente monitoreados por dispositivos de medición de algunas propiedades físicas como son: tiempo y temperatura para el caso que se trate de procesos de esterilización por calor seco ^(5, 6, 7).

La supervivencia microbiana es el parámetro biológico que se mide durante el proceso de inactivación microbiana. Esto puede ser determinado por exposición de la población microbiana a las condiciones de esterilización y luego midiendo el número de supervivientes viables por métodos de cultivo.

La esterilización por calor seco es el clásico ejemplo de un proceso de inactivación microbiana. Esto es una función clara de probabilidad y de una relación normal existente entre los parámetros físicos y biológicos. En general los parámetros físicos como la temperatura y el tiempo del proceso pueden ser analizados para predecir los efectos biológicos. Para determinar esta relación es necesario entender la cinética de destrucción microbiana.

Cuando se exponen a las condiciones letales, los microorganismos mueren de acuerdo a una relación logarítmica entre la concentración celular y el tiempo de exposición, esta relación puede ser no lineal.

Los procesos de esterilización a menudo involucran algunas variables interrelacionadas, cada una de las cuales opera bajo un conjunto único de circunstancias. A lo largo de años, los patrones de

respuesta han sido nombrados en muchos de los procesos más rutinarios, y científicos, junto con matemáticos, han desarrollado relaciones matemáticas para algunas de estas actividades, principalmente como un mecanismo para la determinación analítica de valores de la esterilización.

Los tres factores que juegan el papel más importante en los procesos de esterilización y despirogenización son la temperatura, el tiempo y la resistencia microbiana.

Para consolidar todas estas variables en un sistema que permita la evaluación de la capacidad de destrucción térmica de un ciclo de esterilización específico, se han desarrollado tres términos que hasta ahora se han aplicado exclusivamente en los procesos de esterilización /despirogenización: el valor D, el valor Z y el valor F.

A) Valor D

Un parámetro importante llamado el valor de reducción decimal o valor D es un término empleado para describir la resistencia térmica de un microorganismo en particular al proceso de esterilización y se define como el tiempo requerido a temperatura determinada para reducir una población microbiana específica en un 90 %, o sea bajar un ciclo logarítmico en las curvas de supervivencia de dicha población microbiana.

El conocimiento del valor D de una población microbiana es importante para el proceso de validación por las siguientes razones:

- a) Es una cinética específica para cada microorganismo en un medio específico, agente de esterilización o condición específica es decir, el valor D se ve afectado por:
 - Tipo de microorganismo usado como indicador biológico (estos son microorganismos en su forma esporulada conocidos como microorganismos vivos de mayor resistencia a los efectos letales del proceso de esterilización).
 - Componentes de la formulación y características.
 - Superficie en la cual están expuestos los microorganismos (vidrio, acero, plástico, solución, polvo seco, etc.)

➤ Temperatura, concentración de gas o dosis de radiación en el proceso de esterilización particular

b) El valor D es usado para calcular F

c) Esta es una expresión cinética fundamental para la inactivación térmica de una población de organismos dada bajo condiciones específicas de esterilización.

d) La determinación del valor D a diferentes temperaturas permite la determinación de otro parámetro biológico importante, la tasa constante de muerte térmica o Valor Z.

B) Valor Z

Las determinaciones del valor D generalmente se llevan a cabo bajo condiciones isotérmicas, pero experimentalmente se ha probado que la resistencia de un microorganismo puede cambiar cuando se altera la temperatura. Este cambio en la tasa de inactivación con un cambio en la temperatura se conoce como el valor Z y se define como el número de grados de temperatura necesarios para cambiar el valor D por un factor de 10. El valor Z permite la integración de los efectos letales del calor cuando la temperatura cambia durante las fases de calentamiento y enfriamiento de un ciclo de esterilización; el valor Z es un componente necesario para los cálculos que permite la comparación de la letalidad a diferentes temperaturas.

Cuando los valores de D y Z se conocen es posible integrar los parámetros de un proceso de esterilización y/o despirogenización y predecir el nivel de destrucción microbiana.

C) Valor F

El valor F es usado como medida de la efectividad de la esterilización. El valor F se define como el tiempo equivalente a la temperatura a la cual es sometido un contenedor o unidad de producto con el propósito de esterilizarlo y/o despirogenizarlo, calculado usando un valor de Z definido. El término F_0 se define como el número de minutos equivalentes a la temperatura de 121.1°C de esterilización con vapor proporcionados a un contenedor o unidad de producto, usando un valor de Z de 10°C.

El término F_H es similar a F_0 y es usado para describir el número de minutos equivalentes de un proceso de esterilización por calor seco a la temperatura de 170°C proporcionado a un contenedor o unidad de producto calculado usando un valor de Z de 20°C . Aunque para el calor seco los valores de Z tienen un rango de 13° a 28°C en la literatura se han reportado valores que van de 17° a 23°C siendo 20°C considerado como el valor adecuado.

En resumen cuando la temperatura de referencia es 121.1°C (calor húmedo), el valor F es referido como F_0 ; cuando la temperatura de referencia es 170°C , (calor seco) el valor es referido como F_H .^(7,8)

1.8 RECIPIENTES DE VIDRIO

Un producto farmacéutico fabricado por un proceso aséptico puede contaminarse por uso de uno o más de sus componentes, (Ej. Los ingredientes activos, excipientes, agua para inyección, recipientes o contenedores) estos pueden ser contaminados con microorganismos o endotoxinas. Es importante caracterizar el nivel de carga microbiana de cada componente responsable de contaminación y establecer límites de aceptación / rechazo apropiados basándose en información de la biocarga. El conocimiento de la biocarga es crítico para evaluar si el proceso de la esterilización es adecuado.

En un proceso aséptico, cada componente se esteriliza /despirogeniza individualmente o se combinan varios componentes, y la mezcla resultante se esteriliza, existiendo varios métodos para esterilizar dichos componentes.

Un antecedente importante en la fabricación de productos parenterales es que estos deben estar libres de pirógenos, por lo tanto los recipientes y sistemas de cierre usados en la fabricación de este tipo de medicamentos deben ser estériles y libres de pirógenos. El tipo de procesos usados dependerá principalmente de la naturaleza del material que compone el recipiente y/o sistema de cierre. El estudio de validación para cualquier proceso debe ser adecuado para demostrar su habilidad para proporcionar materiales estériles y libres de pirógenos. Los procedimientos deben especificar la frecuencia de revalidación de estos procesos.

El vidrio tradicionalmente ha sido considerado el material de empaque primario de elección para muchos productos farmacéuticos. Sin embargo, no se debe asumir que el vidrio es un material totalmente inerte o que es el material de empaque ideal.

Naturaleza y composición de vidrio.

El vidrio es un sólido cristalino también conocido como líquido sobreenfriado puesto que bajo ciertas condiciones puede ordenarse y cristalizar por un proceso conocido como desvitrificación.

El vidrio consiste en una mezcla de óxidos. El vidrio está principalmente compuesto por óxidos como SiO_2 , B_2O_3 , GeO_2 , P_2O_5 , V_2O_5 y Al_2O_3 , las cantidades de SiO_2 son el mayor componente de todos los vidrios comerciales siendo este el responsable de la red tridimensional del vidrio.

Adicionalmente se requieren compuestos tales como CaO, Na₂O, K₂O, BaO o Li₂O para disminuir el reblandecimiento del vidrio por temperatura y de este modo facilitar el proceso de fabricación. Los estabilizadores tales como el Al₂O₃, Sb₂O₃, PbO₂ o ZnO también son requeridos para hacer al vidrio menos propenso a la cristalización o desvitrificación y hacerlo más durable. Estos óxidos pueden migrar y colarse a las soluciones de fármacos que están en contacto con el recipiente de vidrio, particularmente durante el proceso de esterilización.

Los vidrios de cal sodada son medianamente resistentes a los químicos, pero no pueden resistir cambios repentinos de temperatura dependiendo de la concentración del Na₂O, B₂O₃, CaO y MgO en la red cristalina del vidrio.

Los vidrios de borosilicato químicamente tienen una resistencia alta y son conocidos comercialmente como Pyrex y Kimax.

Los vidrios de borosilicato también son conocidos como vidrios USP tipo I, dividiéndose en subclases A y B. La clase de vidrio Pyrex es más difícil de fabricar y tiene un coeficiente de expansión térmica más bajo que la clase B.

El vidrio de borosilicato clase B también llamado vidrio neutro, es comúnmente usado para la fabricación de ampollitas y viales químicamente resistentes a los productos farmacéuticos.

Algunos metales pueden ser adicionados al vidrio para producir ciertos colores tales como el ámbar el cual resulta de la interacción entre óxidos férricos, óxidos ferrosos y azufre.

Otros colores se pueden producir por incorporación del CoO para producir un tono azul, NiO para un tono gris, Cr₂O₃ para un tono verde y CuO para el verde azulado. Estos metales en el vidrio ámbar son fuentes potenciales de trazas de iones, particularmente de fierro.

La farmacopea de los Estados Unidos de América (USP) ha clasificado los recipientes de vidrio de acuerdo a su grado de resistencia química en cuatro tipos:

Tipo I: hecho de vidrio de borosilicato con una alta resistencia química, compuestos principalmente de óxido de silicio y óxidos bóricos, tienen un bajo coeficiente de expansión térmica. En general este tipo de vidrio es apropiado para todos los productos parenterales.

Tipo II: este tipo de vidrio esta hecho de cal sodada dealcalinizada, compuesto de óxido de sodio (13-17 %) y óxido de calcio (5-11%). La existencia de estos dos óxidos hacen de los recipientes de vidrio tipo II químicamente menos resistentes que el tipo I los cuales tienen 4-7 % de Na_2O y 1% de CaO . Un recipiente de vidrio del tipo II, tiene una concentración menor de óxidos migratorios que los del tipo III y su resistencia química se puede aumentar por tratamiento con óxido de azufre para alcalinizar la superficie interna de los recipientes. Sin embargo esta dealcalinización romperá la superficie si esta es expuesta al calor de esterilización o despirogenización o detergentes alcalinos. Los recipientes del tipo II poseen una buena resistencia química al tiempo de uso. Los contenedores del tipo II funden a temperaturas bajas, por lo que pueden ser moldeables más fácilmente, además de tener un alto coeficiente de expansión térmico a diferencia del vidrio del tipo I. Estos quizá sean adecuados para ser usados como recipientes para soluciones de medicamentos que se han amortiguado a pH inferiores a 7.

Tipo III: también es fabricado a base vidrio de cal sodada que contiene niveles relativamente altos de óxido de sodio y de calcio, como los recipientes de vidrio del tipo II, sin embargo un vidrio del tipo III tiene un alto contenido de óxidos migratorios que hacen a los recipientes del tipo III y que no sean sujetos al proceso de de alcalinización. Este tipo de vidrio es adecuado solamente para líquidos libres de agua o para productos farmacéuticos secos.

Tipo no parenteral: Es también fabricado a partir de vidrio de cal sodada y no es apropiado para productos parenterales ^(21, 22).

1.9 DIAGRAMA CAUSA-EFECTO

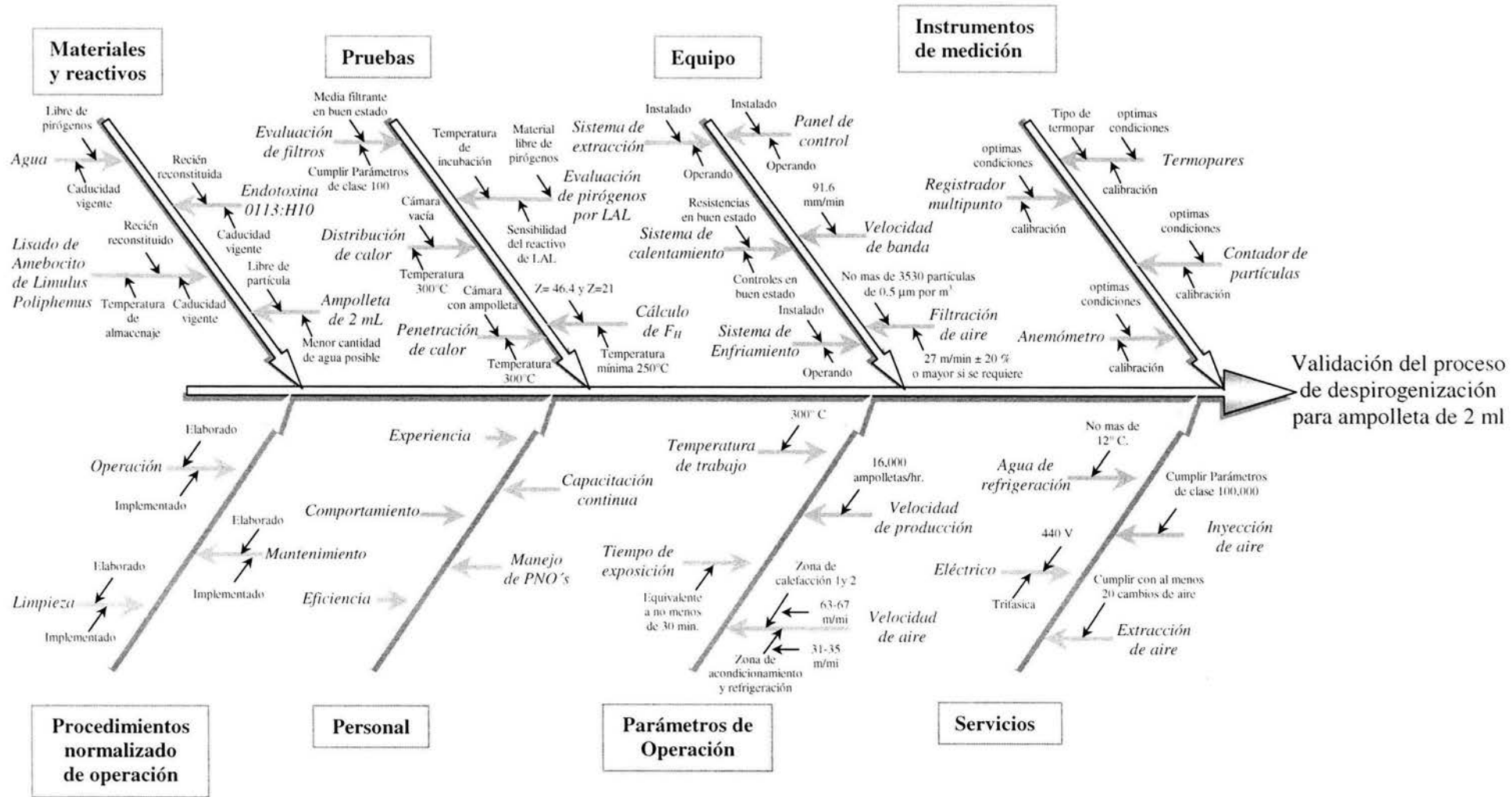


Figura 11. Diagrama de causa-efecto para la validación del proceso de esterilización/despirogenización para ampolleta de 2 ml.

2. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Actualmente dentro de la industria farmacéutica existen empresas dedicadas a la fabricación de diversas formas farmacéuticas destacando en ocasiones la elaboración de productos parenterales, esto debido a la gran demanda que tienen estos medicamentos en el mercado, como es el caso de los laboratorios Fustery. Dentro de los objetivos primordiales que tiene esta empresa es la optimización de sus procesos asépticos con el firme propósito de atender al cien por ciento la demanda que tienen estos productos en el sector salud y que se ha incrementado con el paso de los años, sin olvidar el cumplimiento de los lineamientos que exigen las instancias gubernamentales y el manual de calidad de la empresa, al mismo tiempo que se proporciona al cliente producto que satisface sus necesidades.

Por lo cual se adquirió el Túnel Bosch modelo TLQ-U 42 IE65-09, con este equipo se pretende cubrir las necesidades de producción para este tipo de productos, además de asegurar el nivel microbiológico requerido para las ampollas empleadas en la manufactura de los productos parenterales de pequeño volumen.

Tomando la consideración que para este equipo no se contaba con una base sólida la cual permitiera conocer los parámetros de operación adecuados para llevar a cabo el proceso de despirogenización en ampollas y que a su vez demostrara que el comportamiento es consistente lote a lote, asegurando que cada unidad alcanza la calidad deseada hablando desde luego en términos microbiológicos, es por ello que resulta necesario realizar el diseño de los ciclos de despirogenización enfocándose a establecer y optimizar las condiciones de operación del equipo, además de demostrar por medio de la validación del proceso que se producirá un producto que cumple de manera consistente con las especificaciones predeterminadas y atributos de calidad.

Por tal razón se plantea la siguiente pregunta:

¿Si se controlan los parámetros de operación del proceso de despirogenización como son: temperatura, tiempo de exposición y la velocidad del aire, se podrá obtener bajo las condiciones previamente establecidas y de forma consistente un nivel de despirogenización uniforme?

3. OBJETIVO GENERAL

Demostrar mediante la validación del proceso de despirogenización para ampollita de 2 mL ejecutado en el túnel marca Bosch, que se cumple de manera consistente con las especificaciones microbiológicas asegurando la reducción de por lo menos tres unidades logarítmicas en la concentración de endotoxinas.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Diseñar el ciclo de despirogenización ajustando los parámetros de operación críticos necesarios para garantizar la efectividad del proceso.
2. Llevar a cabo la calificación de instalación y operacional del túnel marca Bosch modelo TLQ-U 42 IE65-09.
3. Demostrar que el proceso de despirogenización en ampollita de 2 mL es confiable, efectivo y reproducible.

4. HIPÓTESIS

Si se controlan los parámetros de operación críticos previamente determinados durante la fase del desarrollo como temperatura, tiempo y velocidad de aire a través de la validación del proceso de despirogenización por calor seco, entonces el proceso será capaz de proporcionar de forma consistente contenedores de vidrio con la calidad microbiológica requerida para la fabricación de productos parenterales.

5. MATERIALES

5.1 EQUIPO

Túnel de Esterilización/despirogenización

- Marca: BOSCH
- Modelo: TLQ-U 42 IE65-09
- Serie: 61X0330188
- Voltaje : 220 V
- Localización: Área de preparativos de ampollita anexa a la zona aséptica de llenado de agua del departamento de inyectables.

5.2 INSTRUMENTACIÓN

- Juego de 10 termopares tipo “T” (cobre-constantano) con cubierta de kapton
- Baño de referencia de alta temperatura Marca Kaye modelo HTR-400
- Termómetro de Resistencia de Platino inteligente marca Kaye (IRTD)
- Registrador multipuntos Marca Kaye Modelo Digistrip 4S PLUS.
- Contador de partículas Met One
- Anemómetro marca Air Flow
- Cronómetro marca VWR

5.3 MATERIAL

- PC Notebook Toshiba Modelo Satellite Pro 220
- Software de Validación marca Kaye Versión 2.1
- Software Collect marca Kaye Versión 2.0 (Colección de Datos).
- Soporte para termopares fabricado en acero inoxidable 304
- Ampolleta de vidrio neutro de 2.0 mL.

5.4 REACTIVOS

- Frasco con 500 UE obtenida de *E. Coli*
- Reactivo de Lisado de Amebocitos de *Limulus polyphemus*
- Agua libre de pirógenos.

6. METODOLOGÍA

6.1 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

La calificación del equipo se basó en la revisión de instalación del equipo y usando una recopilación de datos provista en el protocolo de calificación, se verificó que los componentes del equipo estén instalados de acuerdo a las especificaciones de diseño. Además toda la documentación de ingeniería fue revisada y comparada con el equipo instalado ⁽²³⁾.

A) Documentación de Ingeniería/Mantenimiento/Compras.

Se solicitó la lista de especificaciones, orden de compra, manuales de instalación, operación y diagramas eléctricos.

B) Lista de partes de recambio y especificaciones.

Se solicitó lista de refacciones así como sus especificaciones, verificando que se cuente con al menos un juego en el almacén.

C) Verificación de los mecanismos de protección de circuitos eléctricos.

Se verificó que todos los mecanismos de protección de circuitos recomendados estuviesen colocados y que su tamaño esté acorde con las especificaciones del fabricante.

D) Lista de filtros.

Se solicitó la lista de filtros y sus especificaciones, verificando que están instalados conforme a las especificaciones del fabricante.

E) Lista de lubricantes.

Se solicitó la lista de lubricantes usados en el equipo, verificando que son los recomendados por el fabricante y afectaran de manera adversa al producto.

F) Lista de instrumentos de medición.

Se solicitó el listado de los instrumentos de medición del equipo en la que se incluyen el número de código, marca o fabricante, alcance máximo, exactitud de la escala. Verificando que están dentro

de un programa de calibración, que cuentan con las etiquetas de código y calibración así como con el certificado de calibración correspondiente.

G) Procedimientos normalizados de operación.

Se revisaron los procedimientos normalizados de operación, documentando que se cuenta con los PNO's de operación, limpieza y mantenimiento.

H) Sistema de control del equipo.

Se verificó que el panel de control de equipo está instalado de acuerdo con el diseño y especificaciones del fabricante.

I) Sistemas de alarmas y de seguridad.

Se verificó la instalación de botones de paro tipo hongo, guardas de seguridad aislamientos eléctricos y alarmas.

J) Reporte de desviaciones en la calificación de la instalación.

Las discrepancias y/o variaciones encontradas fueron documentadas incluyendo su resolución así como los elementos pendientes que posteriormente fueron resueltos.

6.1.2. CRITERIOS DE ACEPTACION

A) General.

Todas las verificaciones requeridas en la calificación de instalación han sido desarrolladas, si aplica, todos los formatos para el registro de datos están completos y autorizados.

Todas las desviaciones y/o variaciones se han resuelto adecuadamente y aprobadas.

B) Documentación de Ingeniería/Mantenimiento/Compras.

Toda la documentación de ingeniería/mantenimiento/compras referente al túnel es exacta. La documentación consiste de especificaciones, orden de compra, manuales asociados con el túnel y diagramas eléctricos.

C) Lista de partes de recambio y especificaciones.

Debe existir una lista de refacciones del túnel emitida por el departamento de mantenimiento y esta debe estar de acuerdo con lo especificado por el fabricante. Debe existir al menos un juego de piezas de recambio en el almacén de refacciones.

D) Verificación de los mecanismos de protección de circuitos eléctricos.

Los mecanismos de protección de circuitos están conectados de acuerdo a las especificaciones del fabricante. La capacidad cumple con los requerimientos del fabricante.

E) Lista de filtros.

La lista de filtros estará basada en la información de las órdenes de compra y especificaciones del equipo y ésta deberá estar completa. Los elementos deberán estar instalados como especifica el fabricante.

F) Lista de lubricantes.

Verificar que el (los) lubricante (s) usados en el equipo están conforme a las especificaciones del fabricante del equipo y no afectarán de ninguna manera al producto.

G) Lista de instrumentos de medición.

Todos los instrumentos deben estar identificados con un número apropiado. Los instrumentos especificados deberán corresponder con los instalados. Todos los instrumentos dentro del programa de calibración deberán estar calibrados y tener las etiquetas de identificación, calibración así como de contar con el certificado de calibración con trazabilidad a los organismos regulatorios nacionales o internacionales.

H) Procedimientos normalizados de operación.

Deberán existir todos los PNO's de operación, limpieza y mantenimiento para el túnel. Todos los documentos serán revisados y actualizados.

I) Sistema de control del equipo.

El panel de control del túnel esta instalado de acuerdo con el diseño y/o especificaciones del fabricante.

J) Sistemas de alarmas y de seguridad.

Deberán estar instalados los botones de paro tipo hongo, guardas de seguridad aislamientos eléctricos y alarmas.

6.2 CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN

6.2.1 Verificación de las funciones del túnel.

La verificación de las funciones del túnel se realizó por medio de una serie de pruebas mediante las cuales se documento que el túnel marca Bosch lleva a cabo las operaciones determinadas para cada control de mando que controlan los mecanismos de protección de circuitos, el sistema de control así como del sistema de alarma y seguridad listados en la tabla 8, verificando que cada uno de ellos desempeñe la operación para la cual fue diseñado. En resumen, se accionaron cada uno de los interruptores enlistados en la tabla antes mencionada, verificando que el túnel realice la operación que indica el fabricante para cada control de mando.

Tabla 8 Elementos requeridos para la verificación de la operación del túnel Bosch

PRUEBA
Energización del túnel
Puesta en marcha del servicio diurno
Conectar el servicio de la banda transportadora
Puesta en marcha de la banda transportadora sin carga
Puesta en marcha de la banda transportadora sin calefacción.
Control de la velocidad de la banda
Control de la velocidad del aire
Control de temperatura de la zona de esterilización/depirogenización 1
Control de temperatura de la zona de esterilización/depirogenización 2
Vaciado de materiales del túnel
Desconectado del servicio diurno
Puesta del servicio nocturno sin reducción automatiza del régimen de giro
Puesta del servicio nocturno con reducción automatiza del régimen de giro
Detención del servicio nocturno
Funcionamiento de los sensores de presencia
Acumulación normal de recipientes a la entrada del túnel
Acumulación normal de recipientes no alcanzada a la entrada del túnel
Acumulación normal de recipientes sobrepasada a la entrada del túnel
Punto de transición o entrega en la salida del túnel a la dosificadora.
Temperatura del túnel baja
Temperatura del túnel alta
Funcionamiento de los interruptores tipo hongo
Funcionamiento de los testigos luminosos

6.2.1 VERIFICACIÓN DE FILTROS ABSOLUTOS

A) Evaluación de los flujos de aire.

La prueba consistió en llevar una serie de mediciones de la velocidad del aire a lo largo de la superficie de cada uno de los filtros absolutos. Esta prueba se realizó dividiendo el área total de cada filtro en secciones de aproximadamente 30 cm considerando un punto más en el centro formado por cada cuatro puntos a una distancia de aproximadamente 15 cm de la cara del filtro.

Se midió la velocidad de cada uno de los puntos con un anemómetro calibrado manteniéndolo bajo el flujo de aire durante un periodo de tiempo de 5 a 10 segundos esperando a que este se estabilizara y se procedió a la toma de la lectura ^(24, 25).

Se establece una especificación de velocidad de aire mayor de 21.6 m/min. y menor de 70.0 m/min. ⁽²⁶⁾.

B) Conteo de partículas.

Se realizó midiendo la cantidad de partículas de 0.3, 0.5, 1.0 y 5.0 μ , “escaneando” a manera de zig zag a todo lo largo y ancho del filtro absoluto, en el lapso de un minuto (la lectura se realiza simultáneamente para los 4 diferentes tamaños de partículas) utilizando el contador láser de partículas. El escaneo se realiza a una distancia de aproximadamente 5 cm de la superficie y marco del filtro ^(24, 25, 27).

Los filtros absolutos deben cumplir con una clase 100 (M 3.5) en el apartado de partículas de 0.5 μ m de acuerdo a la siguiente tabla 9

Tabla 9 clasificación de la calidad del aire de acuerdo al Federal Standard 209 E Clean Room and Works Station Requirements, Contolled Enviroment ⁽²⁸⁾.

NOMBRE DE LA CLASE		Clase									
		0.1 μ m		0.2 μ m		0.3 μ m		0.5 μ m		5.0 μ m	
		Unidades de volumen		Unidades de volumen		Unidades de volumen		Unidades de volumen		Unidades de volumen	
SI	INGLES	m ³	ft ³	m ³	ft ³	m ³	ft ³	m ³	ft ³	m ³	ft ³
M 1		350	9.91	75.7	2.14	30.9	0875	10.0	0.283	-	-
M 1.5	1	1240	35.0	265	7.50	106	3.00	35.3	1.00	-	-
M 2		3500	99.1	757	21.4	309	8.75	100	2.83	-	-
M 2.5	10	12400	350	2650	75.0	1060	30.0	353	10.0	-	-
M 3		35000	991	7570	214	3090	87.5	1000	28.3	-	-
M 3.5	100	-	-	26500	750	10600	300	3530	100	-	-
M 4		-	-	75700	2140	30900	875	10000	283	-	-
M 4.5	1000	-	-	-	-	-	-	35300	1000	247	7.00
M 5		-	-	-	-	-	-	100000	2830	618	17.5
M 5.5	10000	-	-	-	-	-	-	353000	10000	2470	70.0
M 6		-	-	-	-	-	-	1000000	28300	6180	175
M 6.5	100000	-	-	-	-	-	-	3530000	100000	24700	700
M 7		-	-	-	-	-	-	10000000	283000	61800	1750

6.2.2 CALIBRACIÓN DE TERMOPARES

6.2.2.1 PROCEDIMIENTO

1. *Inspección física del termopar.*

Revisar que se encuentre en buen estado lo siguiente:

- a) Aislante
- b) Puntas conectadas
- c) Uniones con terminales sujetas firmemente
- d) Limpieza de la punta del termopar

No debe presentar:

- e) Marcas de dobleces en los termopares que pueda ser señal de un termopar abierto.
- f) Aislante deteriorado, con exposición de cables a lo largo del termopar.
- g) Puntas con terminales de cable con alambres sueltos. Deben estar unidos completamente.
- h) Mover el termopar hacia arriba y hacia abajo en toda su longitud, detectando con esto falsos contactos.

Si el termopar no cumple con alguna de estas especificaciones, no se podrá proseguir a su calibración. Se desecharán o repararán según el caso que se presente.

- 2. Determinar la temperatura de uso del termopar en condiciones normales para su utilización
- 3. Identificar el termopar y el equipo de medición obteniendo la sensibilidad del mismo.
- 4. Establecer las temperaturas de calibración de acuerdo a la siguiente tabla:

Tabla 10 Temperaturas empleadas en la calibración de termopares

Punto	Autoclaves	Túneles	Hornos
	Temperaturas en °C		
Bajo	90	250	200
Verificación	121	300	250
Alto	130	350	300

- 5. Introducir los termopares en los termopozos del baño de referencia de temperatura constante (LTR-140 o HTR-400 de acuerdo a la temperatura de calibración), en el cual también se colocara el estándar de resistencia de platino (iRTD).
- 6. Conectar los instrumentos (registrador multipunto Digistrip 4 S plus, baño de referencia, estándar de platino iRTD y PC) a la interface. Encender los instrumentos así como la PC e inicializar el programa de validación.
- 7. Verificar que todos los instrumentos estén intercomunicados e ingresar al menú de configuración e indicar los siguientes parámetros:

- a) Las temperaturas de calibración: alta, baja y de verificación
 - b) Desviación máxima permitida para la referencia de temperatura
 - c) Desviación máxima de los termopares sin calibrar.
 - d) Tiempo de registro de datos de calibración después de la estabilidad.
 - e) Condiciones de la calificación (rango de temperaturas del estudio tiempo de exposición de la prueba, nombre del equipo, etc.)
8. Una vez terminada la configuración se debe transferir la información al registrador para poder comenzar con la calibración de los termopares y la calificación.
 9. Iniciar la calibración en los tres puntos seleccionados, asegurando que los termopares se encuentren insertados hasta el fondo de los termopozos.
 10. Después de concluir la calibración de los termopares se podrá continuar con la calificación.
 11. Una vez concluida la calificación realizar lo indicado en el punto 1 inspección física del termopar. Verificar la calibración de los termopares tomando únicamente en cuenta la temperatura de trabajo como punto de verificación. Los termopares deberán cumplir con los criterios establecidos en la siguiente tabla.

Tabla 11 Criterios de aceptación para la calibración de termopares ⁽²⁹⁾

PARÁMETRO A EVALUAR	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
DESVIACION MÁXIMA DEL ESTÁNDAR DE REFERENCIA	$\pm 0.012^{\circ}\text{C}$
DOS PUNTOS DE CALIBRACIÓN.- REGISTRAR LOS DATOS DEL PUNTO ALTO Y BAJO	Ver tabla 10
DIFERENCIA MÁXIMA DE TERMOPARES ANTES DE SU CALIBRACIÓN	1.00°C
DESVIACIÓN MÁXIMA DE LOS TERMOPARES vs. RTD DESPUÉS DE SU CALIBRACIÓN	0.50°C
DIFERENCIA MÁXIMA ENTRE TERMOPARES ANTES Y DESPUÉS DE SU CALIBRACIÓN	$\pm 0.50^{\circ}\text{C}$
TIEMPO DE REGISTRO DE LECTURAS DE LOS TERMOPARES DURANTE LA CALIBRACIÓN	3 min.
EVALUACIÓN DEL PUNTO MEDIO: DESPUES DE REALIZAR EL CÁLCULO DE LOS FACTORES DE CORRECCIÓN Y CARGARLOS AL REGISTRADOR MULTIPUNTO, TODOS LOS TERMOPARES, CUANDO SEAN CORREGIDOS DEBERAN TENER UNA DIFERENCIA CON RESPECTO AL ESTANDAR DE REFERENCIA EN NO MÁS DE:	$\pm 0.1^{\circ}\text{C}$
POST EVALUACIÓN: DESPUÉS DE CONCLUIR CADA ESTUDIO DE VALIDACION ES NECESARIO VALUAR EL PUNTO MEDIO O BIEN UN PUNTO DENTRO DEL RANGO DE CALIBRACIÓN, ESTA EVALUACIÓN PROVEE LA EVIDENCIA DE QUE EL PROCESO FUE EXITOSO Y QUE EL EQUIPO MANTIENE LOS DATOS DE CALIBRACIÓN. TODOS LOS TERMOPARES DEBEN ESTAR CON RESPECTO A LA REFERENCIA DE TEMPERATURA EN NO MÁS DE:	$\pm 0.5^{\circ}\text{C}$

6.2.3. ESTUDIO DE DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN CÁMARA VACÍA

Para verificar la uniformidad de temperatura en la cámara vacía del túnel se distribuyeron 10 termopares a lo ancho del soporte diseñado para tal motivo según se indica en la figura 11 verificando que las puntas de los termopares no llegaran a tocar ninguna superficie y se inicio el funcionamiento de la banda trabajando con el túnel bajo condiciones normales de operación, iniciando el monitoreo con el registrador multipunto al mismo tiempo que se opera el funcionamiento de la banda y finalizar este registrando alrededor de 20 lecturas después de que los termopares ingresaron a la zona de enfriamiento. El presente estudio se realizó por triplicado. Al finalizar el monitoreo y basándose en los resultados obtenidos se evaluó la uniformidad de temperatura en la cámara del túnel.

La diferencia entre las lecturas de los termopares en la zona de esterilización /despirogenización no deberá ser mayor a ± 15 °C.

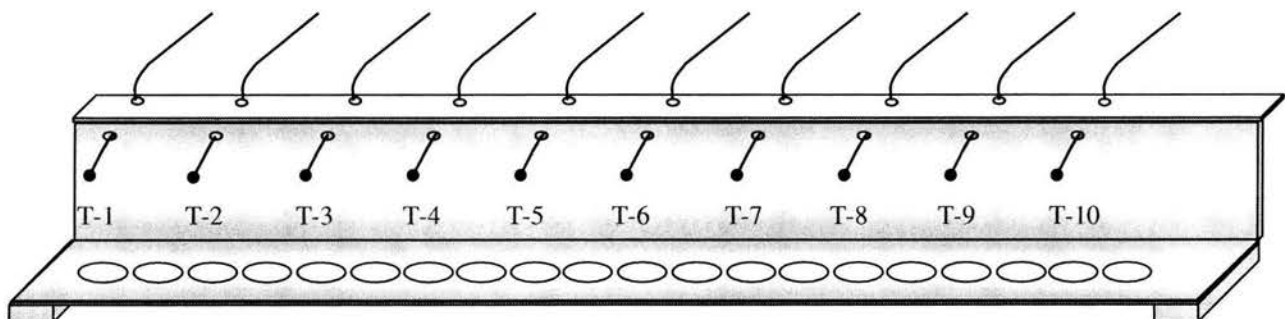


Figura 12 Distribución de termopares en el túnel de despirogenización durante el estudio de distribución de calor con cámara vacía.

6.3 CALIFICACIÓN FUNCIONAL

6.3.1 ESTUDIO DE PENETRACIÓN DE CALOR CON CAMARA CON CARGA (VALIDACIÓN DEL PROCESO DE DEPIROGENIZACIÓN)

Para verificar la penetración del calor se realizó el ciclo con ampollas, utilizando 10 de estas ampollas conteniendo 1000 UE de endotoxina en el mínimo volumen posible, colocando éstas en el

soporte diseñado para tal motivo e insertando hasta el fondo de cada ampollita un termopar. La distribución de las ampollitas fue en el mismo orden en que fueron distribuidos los termopares en el estudio de distribución de calor. Se inicio el funcionamiento de la banda trabajando con el túnel bajo condiciones normales de operación y con la banda a su máxima velocidad, iniciando el monitoreo con el registrador multipunto al mismo tiempo que se opera el funcionamiento de la banda y finalizar este registrando alrededor de 20 lecturas después de que los termopares ingresaron a la zona de enfriamiento. Al finalizar el monitoreo se retiraron bajo condiciones asépticas los termopares junto con los indicadores biológicos cubriendo estos últimos con papel aluminio para posteriormente ser evaluados por el departamento de control microbiológico. El presente estudio se realizó por triplicado.

El F_H acumulado en todos los ciclos deberá ser como mínimo 30 minutos de exposición a 250 °C o más, considerando un valor de $Z = 21$ y $Z = 46.4$.

El estudio de biocarga realizado con los indicadores biológicos deberá resultar negativo en todos los casos, evaluados por el método de LAL.

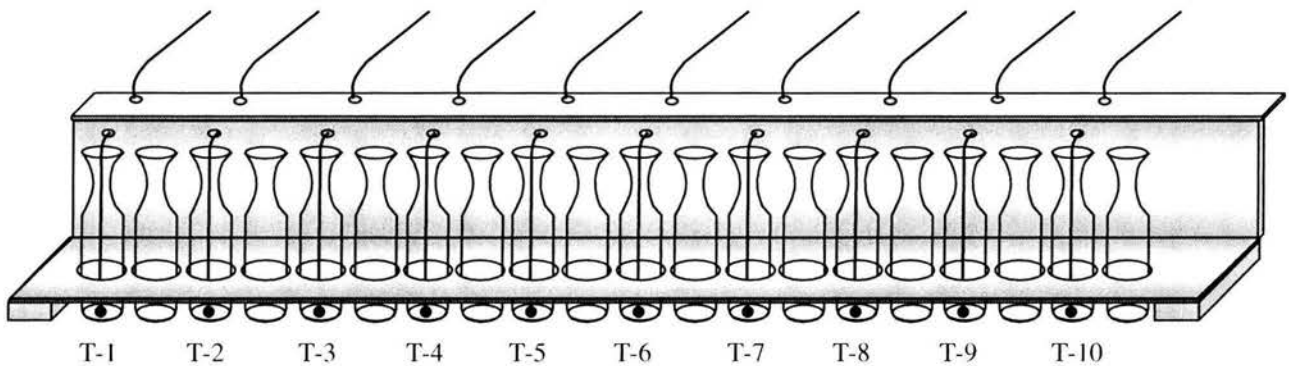


Figura 13 distribución de termopares e indicadores biológicos en el túnel de despirogenización durante el estudio de penetración de calor.

6.4 DIGRAMA DE FLUJO

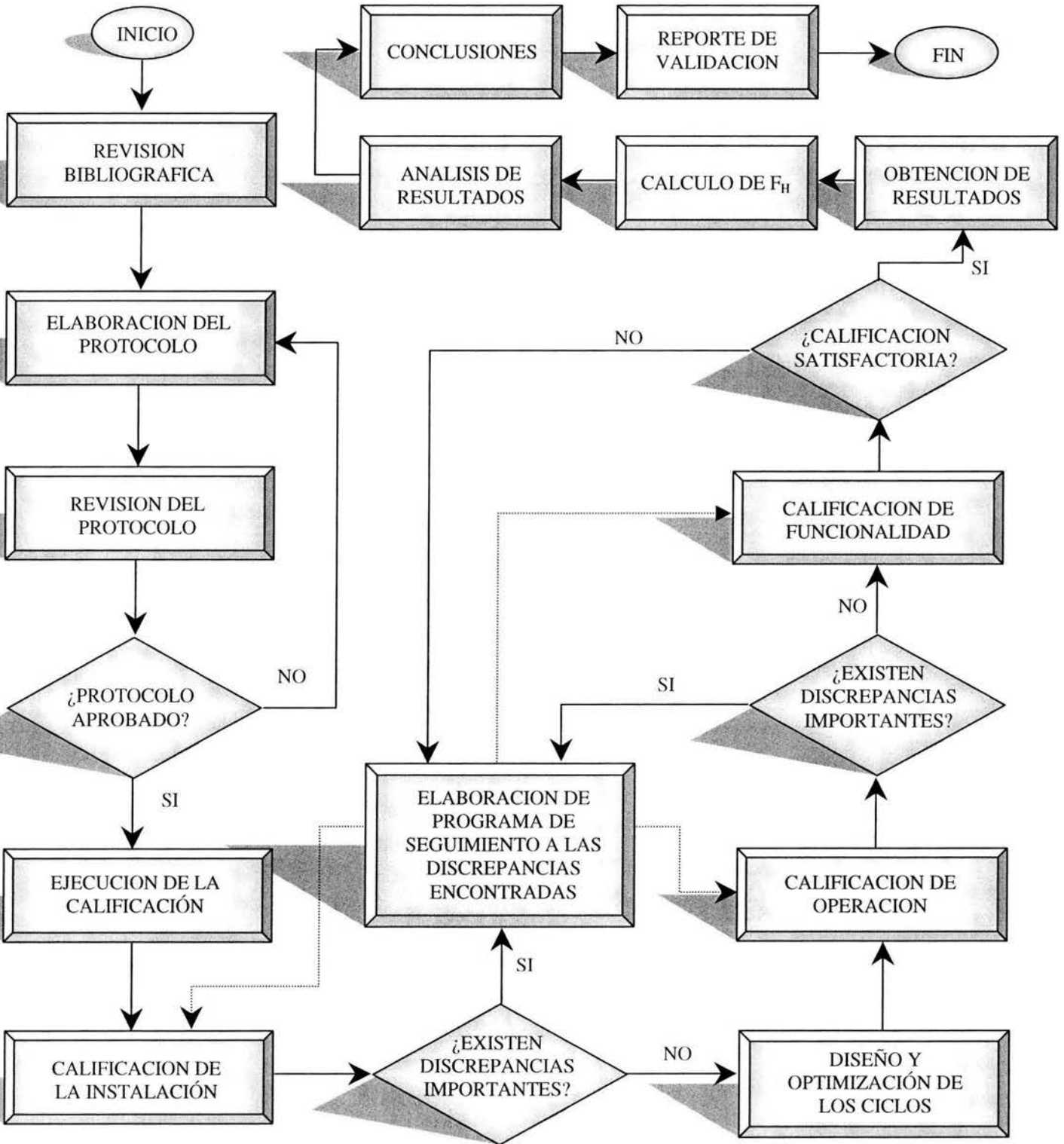


Figura 14. Diagrama de flujo para la validación del proceso de esterilización/despirogenización para ampolleta de 2 mL.

7. RESULTADOS

7.1 CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN

La calificación del equipo se basó en la revisión de instalación del equipo y usando una recopilación de datos provistos en el protocolo de calificación, se verificaron que los componentes del equipo estén instalados de acuerdo a las especificaciones de diseño. Además, toda la documentación fue revisada y comparada con el equipo instalado.

7.1.1 DOCUMENTACIÓN.

Se cuenta con un ejemplar de la documentación mencionada en la tabla 12. Así como las piezas descritas en la documentación antes mencionada se encuentran instaladas físicamente en el equipo como se documenta en la tabla 13.

Se cuenta con manuales y diagramas en el idioma español e inglés.

A) LISTA DE PARTES DE RECAMBIO Y ESPECIFICACIONES.

La lista de refacciones proporcionada describe cada una de estas piezas, además de contar con un juego de refacciones en el almacén como piezas de recambio.

B) LISTA DE FILTROS.

Los filtros instalados en el equipo cumplen las especificaciones del fabricante en cuanto a dimensiones, medio filtrante, eficiencia y tipo de sello.

C) LISTA DE LUBRICANTES.

Los lubricantes empleados en el equipo son los recomendados por el fabricante, quedando documentado lo anterior en los formatos de reporte del anexo correspondiente al reporte técnico resguardado por el departamento de validación.

D) LISTA DE INSTRUMENTOS DE MEDICIÓN.

El listado de los instrumentos describe las características de cada uno de los instrumentos instalados como: el número de código, marca o fabricante, alcance máximo, exactitud de la escala.

Todos los instrumentos instalados en el túnel y tablero de control se encuentran dentro de un programa de calibración, mismos que cuentan con las etiquetas de código y calibración así como con el certificado de calibración correspondiente, localizados en el departamento de validación.

E) PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN.

Se cuenta con los procedimientos normalizados de operación de limpieza y mantenimiento actualizados.

F) REPORTE DE DESVIACIÓN EN LA CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN.

No se contaba con los procedimientos normalizados de operación, de limpieza y de mantenimiento, de igual manera no existía un listado de los filtros empleados en el equipo. Las discrepancias y/o variaciones encontradas fueron documentadas incluyendo su resolución así como los elementos pendientes que posteriormente fueron resueltos.

Tabla 12 Verificación de la documentación

DOCUMENTO	
	CUMPLE SI/NO
Listado de especificaciones	Sí
Orden de compra	Sí
Manual (es) de instalación	Sí
Manual (es) de operación	Sí
Diagramas eléctricos	Sí
Diagramas de partes mecánicas	Sí
Listado de partes de recambio	Sí
Listado de filtros y especificaciones	Sí
Listado de lubricantes	Sí
Listado de instrumentos de medición	Sí
Reportes de calibración de los instrumentos instalados en el túnel	Sí
Procedimiento normalizado de operación del equipo	Sí
Procedimiento normalizado de operación de limpieza del equipo	Sí
Procedimiento normalizado de operación de mantenimiento del equipo	Sí
Bitácora de operación	Sí

7.1.2 VERIFICACION DE LOS COMPONENTES INSTALADOS

Tabla 13 Verificación de los componentes instalados

COMPONENTE	
	CUMPLE SI/NO
Tablero de suministro de energía eléctrica.	Sí
Panel de control.	Sí
Guardas de seguridad.	Sí
Sensor de temperatura de la zona de acondicionamiento.	Sí
Sensor de la zona de esterilización 1.	Sí
Sensor de la zona de esterilización 2.	Sí
Sensor de la zona de enfriamiento.	Sí
Registrador de temperatura de la zona de calentamiento 1, 2 y de enfriamiento.	Sí
Transmisor de regulación para la extracción de aire.	Sí
Transmisor de presión en la zona de acondicionamiento.	Sí
Transmisor de presión diferencial de la zona de calentamiento 1.	Sí
Transmisor de presión diferencial de la zona de calentamiento 2.	Sí
Transmisor de presión en la zona de enfriamiento.	Sí

COMPONENTE	
Potenciómetro de control de temperatura de la zona 1.	Sí
Potenciómetro de control de temperatura de la zona 2.	Sí
Control de la temperatura de la zona de enfriamiento.	Sí
Interruptor de accionamiento de la banda en tablero principal, de la dosificadora y de la lavadora.	Sí
Control de velocidad de la banda.	Sí
Inversor de velocidad de motores de los ventiladores.	Sí
Motor del ventilador y ventilador de la zona de acondicionamiento.	Sí
Motor del ventilador y ventilador de la zona de calentamiento 1.	Sí
Motor del ventilador y ventilador de la zona de calentamiento 2.	Sí
Motor del ventilador y ventilador de la zona de enfriamiento.	Sí
Resistencias.	Sí
Filtros.	Sí
Banda transportadora.	Sí
Bandas de transportación lateral.	Sí
Motor de tracción de la banda transportadora.	Sí
Sistema de refrigeración por agua helada.	Sí
Interruptor de seguridad tipo hongo en tablero principal, lavadora y dosificadora.	Sí
Alarma audible.	Sí
Luces indicadoras.	Sí
Interruptor principal.	Sí

7.2 CALIFICACIÓN DE LA OPERACIÓN

7.2.1 VERIFICACIÓN DE LAS FUNCIONES DEL TUNEL

A) VERIFICACIÓN DE LOS MECANISMOS DE PROTECCIÓN DE CIRCUITOS ELÉCTRICOS.

Todos los mecanismos de protección de circuitos recomendados están colocados y funcionan de acorde con lo indicado por el fabricante (tabla 14).

B) SISTEMA DE CONTROL DE EQUIPO.

El funcionamiento del panel de control de equipo está de acuerdo con el diseño y especificaciones del fabricante (tabla 14).

C) SISTEMAS DE ALARMAS Y SEGURIDAD.

Todos los botones de paro tipo hongo, guardas de seguridad, aislamientos eléctricos y alarmas instalados en el equipo cumplen con su función (tabla 14).

D) REPORTE DE DESVIACIÓN EN LA CALIFICACIÓN DE LA OPERACIÓN.

Durante la calificación se encontraron desviaciones mismas que se mencionan a continuación:

- Algunos testigos luminosos no encendían
- la banda transportadora no corría de forma adecuada
- los flujos de aire eran demasiado bajos.

Las discrepancias y/o variaciones encontradas fueron documentadas incluyendo su resolución así como los elementos pendientes que fueron resueltos antes de iniciar la calificación del desempeño.

Tabla 14 Verificación de la operación de los elementos del túnel

PRUEBA	DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA	CUMPLE SI/NO
Energización del túnel	Al colocar el interruptor principal en posición de encendido se enciende el testigo luminoso "interruptor principal conectado", el ventilador (del armario principal) esta en marcha.	Sí
	La caja de servicio o de mando de la lavadora: se enciende el testigo luminoso correspondiente a "interruptor principal conectado".	Sí
Puesta en marcha del servicio diurno	Se enciende el testigo luminoso "servicio diurno".	Sí
	Entra en funcionamiento los ventiladores de la zona de acondicionamiento, zona de salida, los correspondientes al aire caliente y a la succión, así como la succión de vapores y aire de salida. Nota: los potenciómetros correspondientes no estén en la posición de cero.	Sí
	Se conecta la calefacción y se encienden los testigos luminosos (luces piloto) correspondientes a vigilancia de corriente de aire "entrada LF", "ventilador de aire caliente" y "salida LF".	Sí
	El regulador de temperatura regula la del aire caliente en etapas o fases cronológicas.	Sí
Conectar el servicio de la banda transportadora	Del armario principal: llevar el conmutador selector a "vaciar-servicio" a la posición I. La banda esta lista para ponerse en marcha.	Sí
	De la caja de servicio o mando de la lavadora: llevar el interruptor tipo llave a la posición 2 "servicio". La banda esta lista para ponerse en marcha.	Sí
Puesta en marcha de la banda transportadora sin carga	Del armario principal: cuando el interruptor de puesta en marcha de la banda se coloca en posición "0" y se presiona el botón verde situado a un lado del interruptor de puesta en marcha y después de un par segundos se comienza a moverse.	Sí
	El testigo luminoso "accionamiento" colocado en la lavadora y dosificadora se enciende.	Sí
Puesta en marcha de la banda transportadora sin calefacción.	De la caja de servicio o mando de la lavadora: colocar el interruptor tipo llave en la posición 3 "puesta en marcha sin calefacción". Después de un par segundos la banda se comienza a mover además de encender el testigo luminoso "accionamiento" en la lavadora.	Sí
Control de la velocidad de la banda	Al aumentar el valor del potenciómetro de control de velocidad de la banda esta también incrementa su velocidad.	Sí
Control de la velocidad del aire	Al aumentar el valor del inversor de frecuencia de control de velocidad de los motores, la velocidad del aire se incrementa.	Sí
Control de temperatura de la zona de esterilización/depirogenización 1	Al incrementar el valor del potenciómetro de la temperatura del túnel se incrementa.	Sí

PRUEBA	DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA	CUMPLE SI/NO
Control de temperatura de la zona de esterilización/depirogenización 2	Al incrementar el valor del potenciómetro de la temperatura del túnel se incrementa	Sí
Vaciado de materiales del túnel	Del armario principal: cuando el interruptor de puesta en marcha de la banda se coloca en posición "0" "vaciar". La cinta transportadora sigue en marcha aun cuando no haya acumulación de recipientes a la entrada del túnel. La lavadora debe quedar fuera de servicio.	Sí
	De la caja de servicio o mando de la lavadora: colocar el interruptor tipo llave en la posición 2 "servicio". La cinta transportadora sigue en marcha aun cuando no haya acumulación de recipientes a la entrada del túnel. La lavadora debe quedar fuera de servicio.	Sí
Desconectado del servicio diurno	Del armario principal: al desconectar el pulsador rojo "servicio diurno" queda fuera de servicio la calefacción. El testigo luminoso "servicio diurno" lucirá intermitente mientras la temperatura sea superior a 100°C.	Sí
	Tras descender la temperatura por debajo de 100°C se detendrán los ventiladores para el aire caliente y succión, así como los correspondientes a entrada LF y Salida LF.	Sí
	Se apaga entonces el testigo luminoso intermitente. Se apagan también los testigos luminosos de vigilancia de corriente de aire de entrada LF, ventilador de aire caliente y salida LF.	Sí
Puesta del servicio nocturno sin reducción automatiza del régimen de giro	Del armario principal: pulsar el botón "servicio nocturno (conectado). Se apaga la luz piloto "servicio diurno", se enciende el testigo luminoso "servicio nocturno". Se apaga la calefacción.	Sí
	Una vez que la temperatura desciende por debajo de 100°C se detendrán los ventiladores para aire caliente y para succión.	Sí
	El ventilador de aire caliente y los de entrada LF y salida LF siguen funcionando aunque con rendimiento reducido.	Sí
Puesta del servicio nocturno con reducción automatiza del régimen de giro	Del armario principal: pulsar el botón "servicio nocturno. Se apaga la luz el testigo luminoso "servicio diurno", se enciende el testigo luminoso "servicio nocturno". Se apaga la calefacción.	Sí
	Una vez que la temperatura desciende por debajo de 100°C se detiene el ventilador de succión.	Sí
	El ventilador de aire caliente y los de entrada LF y salida LF siguen funcionando aunque con rendimiento reducido.	Sí
Detención del servicio nocturno	Del armario principal: pulsar el botón rojo "servicio nocturno" (desconectado). Luce intermitente el testigo luminoso "servicio nocturno" en tanto la temperatura sobrepasa los 100°C.	Sí
	Una vez que hayan sobrepasado los 100°C comenzaran a funcionar todos los ventiladores	Sí
	Se apaga la luz testigo intermitente. Se apagan la luz de los pilotos correspondientes a vigilancia de la corriente de aire.	Sí

PRUEBA	DESCRIPCIÓN DE LA PRUEBA	CUMPLE SI/NO
Funcionamiento de los sensores de presencia	Al estar la lavadora en servicio de producción, los recipientes que han sido lavados y depositados en la zona de acondicionamiento del túnel accionaran los sensores de presencia y de esta manera se pone en funcionamiento la banda transportadora.	Sí
Acumulación normal de recipientes a la entrada del túnel	Se acciona de la lavadora de ampollas y la banda transportadora del túnel.	Sí
Acumulación normal de recipientes no alcanzada a la entrada del túnel	Se mantiene funcionando la lavadora de ampollas. El accionamiento de la banda transportadora se detiene en tanto no se haya llegado a la acumulación normal.	Sí
Acumulación normal de recipientes sobrepasada a la entrada del túnel	Se detiene el funcionamiento de la lavadora de ampollas. Tras suprimir la perturbación y al presionar el botón blanco "perturbación" se apaga la indicación óptica y la lavadora estará lista para accionar su funcionamiento.	Sí
Punto de transición o entrega en la salida del túnel a la dosificadora.	Bajar el rendimiento de la dosificadora para permitir la acumulación de ampollas a la salida del túnel. De la caja de servicio o mando de la lavadora de ampollas avisa de una perturbación. Se detiene el funcionamiento de la lavadora y de la banda transportadora del túnel.	Sí
	Armonizar el rendimiento de la dosificadora con los demás equipos para evitar la acumulación de ampollas. Una vez disminuida la acumulación de ampollas a la salida del túnel se apaga automáticamente el aviso óptico de perturbación lo que permite el funcionamiento de todos los equipos de la línea de dosificación.	Sí
Temperatura del túnel baja	Cuando la temperatura dentro del túnel es muy baja, el aviso de perturbación enciende el testigo luminoso intermitente así como la señal acústica, deteniéndose el accionamiento de la banda transportadora.	Sí
	El aviso acústico cesa inmediatamente después de suprimir la perturbación (mediante el botón blanco "anular").	Sí
Temperatura del túnel alta	Cuando la temperatura dentro del túnel es muy alta, el aviso de perturbación enciende el testigo luminoso así como la señal acústica. Se desconecta la calefacción.	Sí
	Una vez que la temperatura desciende se apaga el aviso de perturbación.	Sí
Funcionamiento de los interruptores tipo hongo	De armario principal: con la lavadora, túnel y dosificadora en servicio de producción presionar el botón tipo hongo. La lavadora, túnel y dosificadora se detendrán.	Sí
	De la caja de servicio o mando de la lavadora: con la lavadora, túnel y dosificadora en servicio de producción presionar el botón tipo hongo. La lavadora, túnel y dosificadora se detendrán.	Sí
	De la caja de servicio o mando de la dosificadora: con la lavadora, túnel y dosificadora en servicio de producción presionar el botón tipo hongo. La lavadora, túnel y dosificadora se detendrán.	Sí
Funcionamiento de los testigos luminosos	Del armario principal: accionar el pulsador "control de Lámparas", se encienden todos los testigos luminosos correspondientes al túnel.	Sí

7.2.2 EVALUACIÓN DE LOS FILTROS ABSOLUTOS

7.2.2.1 PRUEBAS DE VELOCIDADES DE AIRE

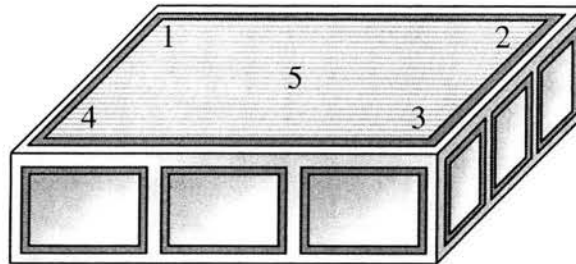


Figura 15 puntos de toma de lectura de las velocidades de aire en filtros absolutos

Tabla 15 Resultados de las velocidades de aire de los filtros absolutos en m/min.

<i>Punto de lectura</i>	<i>Filtro de entrada (zona de acondicionamiento)</i>	<i>Filtro de la zona de calefacción 1</i>	<i>Filtro de la zona de calefacción 2</i>	<i>Filtro de la zona de refrigeración</i>
1	33.6	65.1	66.3	31.2
2	32.1	63.6	66.1	33.0
3	33.5	64.4	65.4	32.2
4	34.5	63.9	65.6	32.5
5	33.9	64.6	65.7	33.1

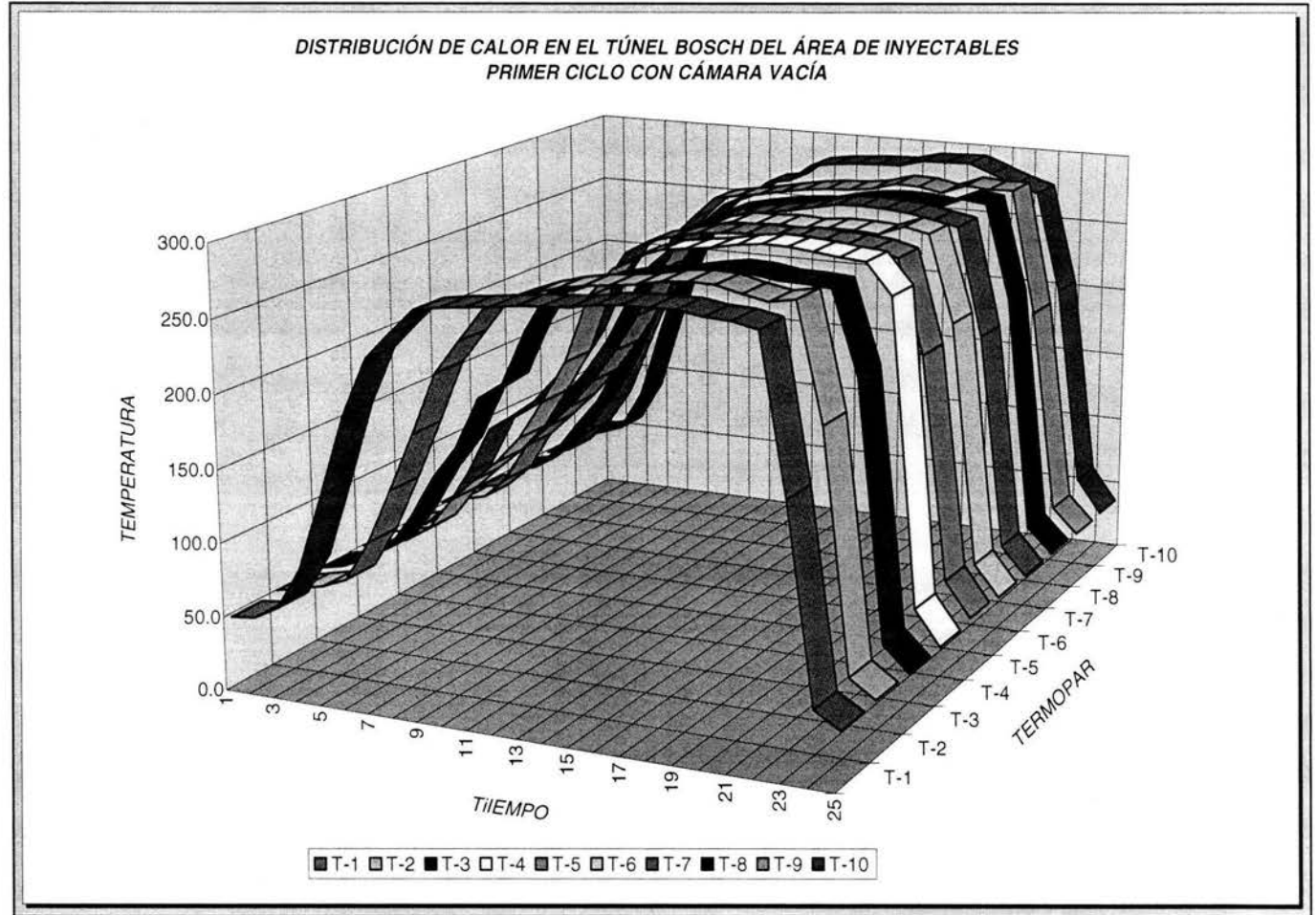
7.2.2.2 CONTEO DE PARTÍCULAS

Tabla 16 Resultados del conteo de partículas de los filtros absolutos.

<i>FILTRO</i>	<i>CORRIDA</i>	<i>TAMAÑO DE LA PARTICULA</i>			
		0.3 μm	0.5 μm	1.0 μm	5.0 μm
<i>entrada (zona de acondicionamiento)</i>	1	28	12	0	0
	2	31	10	1	0
	3	31	15	1	0
	PROMEDIO	30	12.33	0.66	0
<i>zona de calefacción 1</i>	1	30	9	1	0
	2	27	13	0	0
	3	25	11	2	0
	PROMEDIO	27.33	11	1	0
<i>zona de calefacción 2</i>	1	35	17	1	0
	2	32	10	0	0
	3	34	12	0	0
	PROMEDIO	33.66	13	0.33	0
<i>zona de refrigeración</i>	1	22	9	0	0
	2	22	8	0	0
	3	18	5	0	0
	PROMEDIO	20.66	7.33	0	0

7.2.3 ESTUDIOS DE DISTRIBUCIÓN DE CALOR EN CÁMARA VACÍA

PRIMER CICLO CON CÁMARA VACÍA				
TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
MÁXIMA	MÍNIMA	DIF.	F _{ii} MIN	F _{ii} MIN
51.8	47.3	4.5	0.000	0.000
56.6	49.5	7.1	0.000	0.000
78.2	57.0	21.2	0.000	0.000
107.3	64.0	43.3	0.000	0.000
144.5	91.8	52.7	0.000	0.000
194.4	108.2	86.2	0.000	0.001
233.4	123.5	109.9	0.000	0.002
251.8	142.5	109.3	0.000	0.005
268.6	170.1	98.5	0.000	0.019
271.6	199.8	71.8	0.004	0.083
273.5	243.6	29.9	0.496	0.728
282.5	263.4	19.1	4.346	1.944
285.2	270.8	14.4	9.783	2.807
286.7	275.0	11.7	15.505	3.458
287.5	276.2	11.3	17.686	3.670
288.3	280.1	8.2	27.123	4.454
292.7	282.5	10.2	35.287	5.017
293.7	284.3	9.4	42.987	5.486
293.9	281.4	12.5	31.278	4.750
291.6	281.8	9.8	32.680	4.846
289.6	281.2	8.4	30.599	4.703
288.2	276.0	12.2	17.302	3.634
267.5	176.6	90.9	0.000	0.026
63.7	47.2	16.5	0.000	0.000
40.5	36.7	3.8	0.000	0.000



F _{ii} ACUMULADO	265.077	45.632
F _{ii} MÍNIMO ALCANZADO	264.576	44.768
	Z=21	Z=46.4

Figura 16. Distribución de calor en cámara vacía primer ciclo

SEGUNDO CICLO CON CÁMARA VACÍA				
TEMPERATURA		DIF.	Z=21	Z=46.4
MÁXIMA	MÍNIMA		FH MIN	FH MIN
112.6	77.3	35.3	0.000	0.000
177.6	152.6	25.0	0.000	0.008
242.5	233.5	9.0	0.164	0.441
266.3	257.7	8.6	2.326	1.465
276.5	268.8	7.7	7.857	2.542
281.4	274.1	7.3	14.048	3.307
284.2	277.1	7.1	19.520	3.838
286.0	279.3	6.7	24.845	4.280
287.2	280.9	6.3	29.609	4.634
288.1	282.2	5.9	34.145	4.943
288.5	282.9	5.6	36.869	5.117
287.8	282.9	4.9	36.869	5.117
287.1	282.5	4.6	35.287	5.017
287.1	281.7	5.4	32.324	4.822
286.4	281.6	4.8	31.971	4.798
284.3	280.8	3.5	29.286	4.611
278.9	258.4	20.5	2.512	1.517
274.5	256.1	18.4	1.952	1.354
263.7	209.9	53.8	0.012	0.137
255.9	183.8	72.1	0.001	0.037
152.5	91.5	61.0	0.000	0.000

F_{II} ACUMULADO

F_{II} MÍNIMO ALCANZADO

339.597	57.985
339.420	57.361
Z=21	Z=46.4

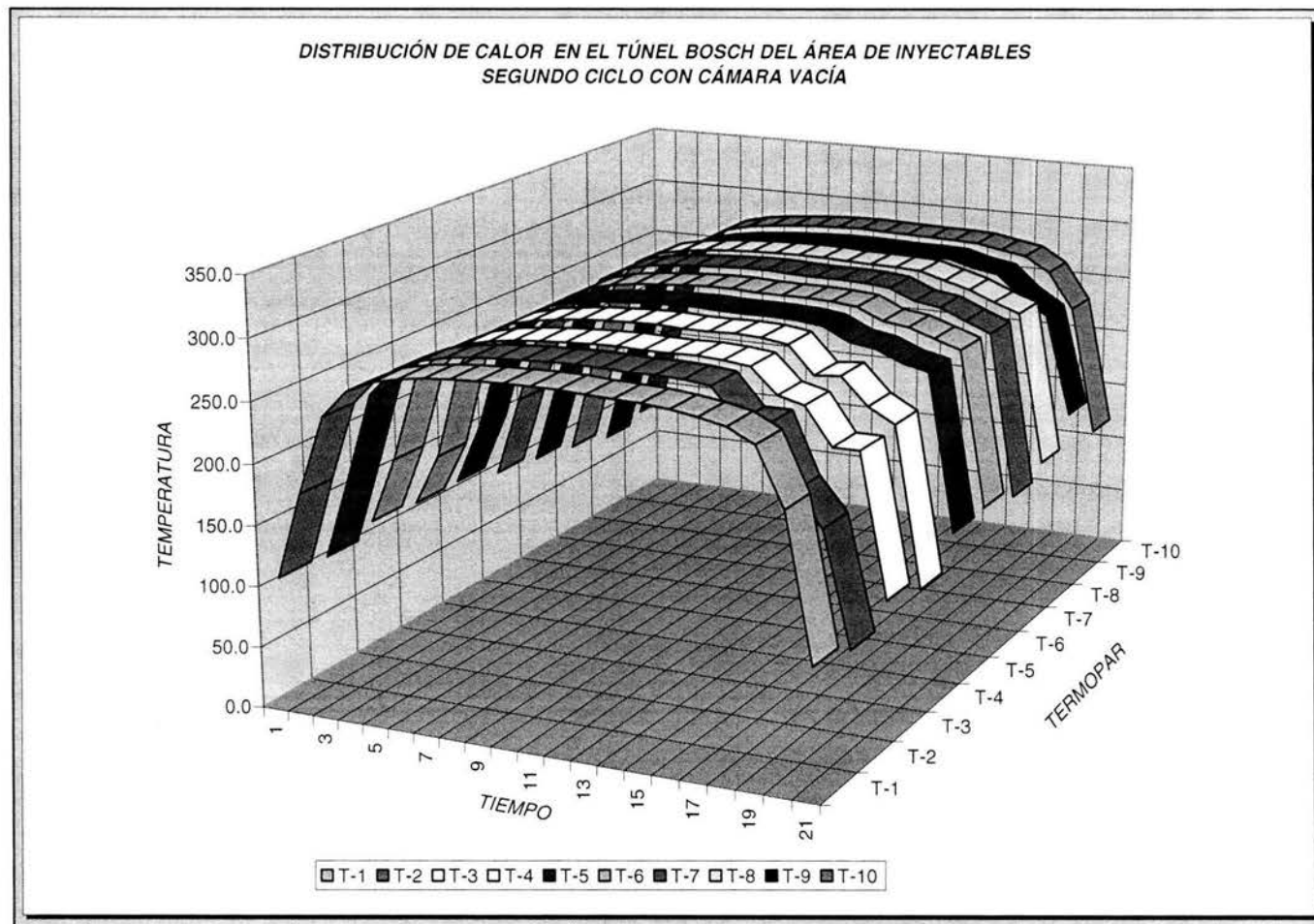
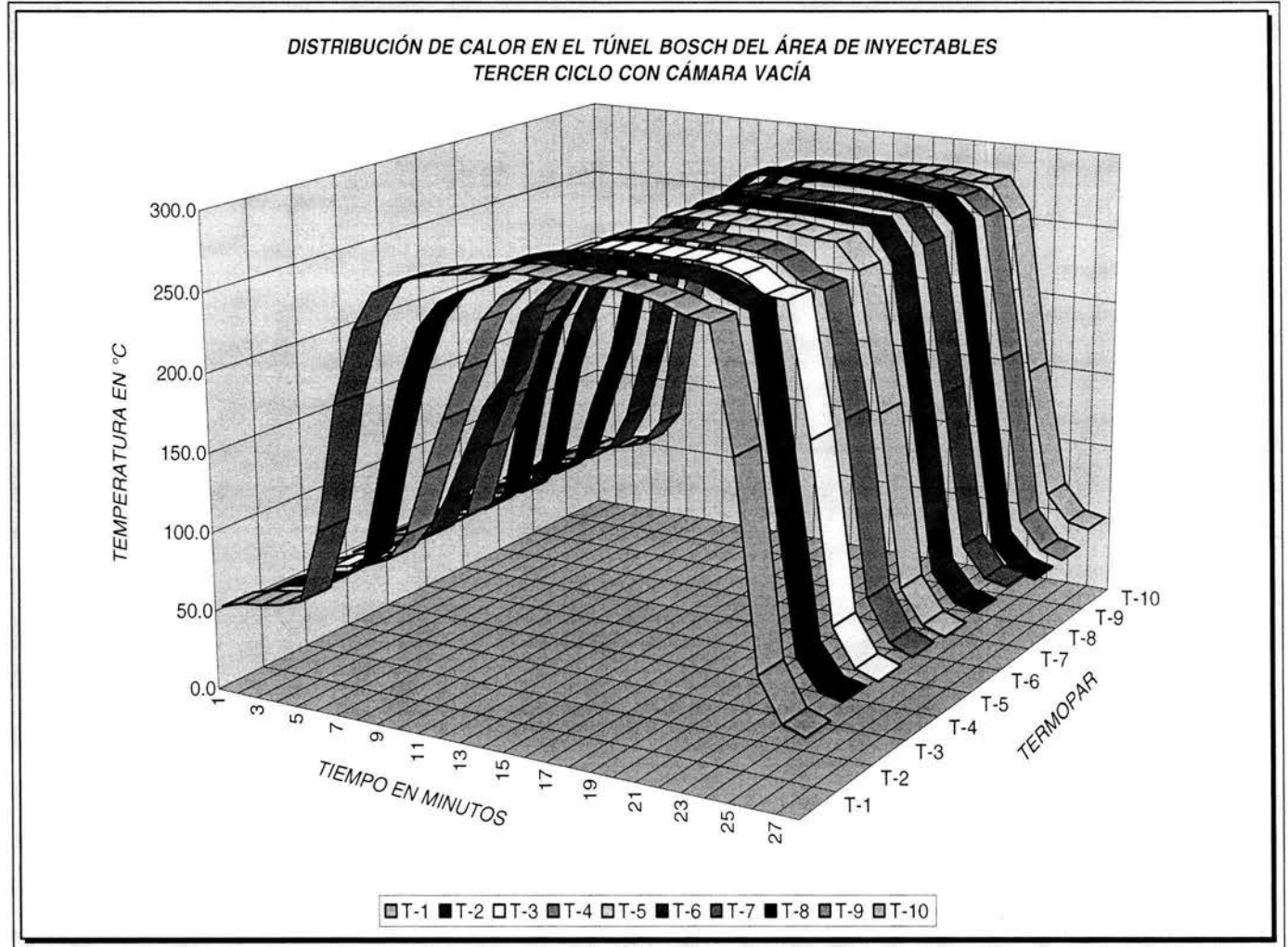


Figura 17. Distribución de calor en cámara vacía segundo ciclo

TERCER CICLO CON CÁMARA VACÍA				
TEMPERATURA		DIF.	Z=21	Z=46.4
MÁXIMA	MÍNIMA		F _{II} MIN	F _{II} MIN
50.8	44.8	6.0	0.000	0.000
55.1	51.2	3.9	0.000	0.000
57.8	54.7	3.1	0.000	0.000
60.8	57.3	3.5	0.000	0.000
77.8	61.8	16.0	0.000	0.000
145.5	79.4	66.1	0.000	0.000
191.2	125.1	66.1	0.002	0.002
238.4	159.0	79.4	0.280	0.011
262.4	180.0	82.4	3.895	0.031
270.2	224.8	45.4	9.160	0.286
274.7	238.1	36.6	15.003	0.554
277.9	250.3	27.6	21.309	1.015
280.4	261.5	18.9	28.030	1.769
287.4	267.9	19.5	60.388	2.431
288.9	270.1	18.8	71.184	2.711
290.0	280.3	9.7	80.309	4.498
289.1	280.2	8.9	72.762	4.476
288.5	281.2	7.3	68.129	4.703
287.7	281.9	5.8	62.408	4.870
287.0	282.3	4.7	57.797	4.967
285.6	280.9	4.7	49.572	4.634
284.2	277.0	7.2	42.518	3.819
283.6	266.6	17.0	39.811	2.279
271.8	256.7	15.1	10.917	1.394
198.4	154.3	44.1	0.003	0.009
80.4	63.2	17.2	0.000	0.000
55.8	47.9	7.9	0.000	0.000



F _{II} ACUMULADO	693.477	44.461
F _{II} MÍNIMO ALCANZADO	632.907	41.157
	Z=21	Z=46.4

Figura 18. Distribución de calor en cámara vacía tercer ciclo

7.2.4 DISEÑO DE LOS CICLOS

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _H MIN	F _H MIN
1	187.7	92.9	94.8	0.000	0.000
2	192.6	92.9	99.7	0.000	0.000
3	199.9	92.8	107.1	0.000	0.000
4	203.8	92.8	111.0	0.000	0.000
5	212.8	92.8	120.0	0.000	0.000
6	218.5	127.5	91.0	0.000	0.002
7	221.8	150.1	71.7	0.000	0.007
8	223.6	157.6	66.0	0.000	0.010
9	224.6	160.9	63.7	0.000	0.012
10	225.5	162.8	62.7	0.000	0.013
11	226.6	163.9	62.7	0.000	0.014
12	227.4	165.2	62.2	0.000	0.015
13	228.6	163.5	65.1	0.000	0.014
14	230.0	162.9	67.1	0.000	0.013
15	231.7	162.7	69.0	0.000	0.013
16	234.9	165.3	69.6	0.000	0.015
17	240.0	173.5	66.5	0.000	0.022
18	245.8	183.3	62.5	0.001	0.037
19	251.7	196.4	55.3	0.003	0.070
20	261.6	210.5	51.1	0.013	0.141
21	267.7	229.3	38.4	0.103	0.358
22	270.8	242.7	28.1	0.449	0.696
23	272.8	250.6	22.2	1.068	1.030
24	273.1	259.5	13.6	2.834	1.602
25	273.1	259.6	13.5	2.865	1.610
26	272.3	256.6	15.7	2.062	1.388
27	268.1	251.6	16.5	1.192	1.083
28	262.2	246.6	15.6	0.689	0.845
29	258.0	243.7	14.3	0.501	0.732
30	254.1	239.2	14.9	0.306	0.585
31	249.9	234.4	15.5	0.181	0.461
32	246.4	231.3	15.1	0.129	0.395
33	252.7	237.2	15.5	0.246	0.530
34	273.7	260.1	13.6	3.027	1.651
35	286.2	271.3	14.9	10.334	2.878
36	292.8	277.0	15.8	19.307	3.819
37	296.5	280.9	15.6	29.609	4.634
38	299.2	284.0	15.2	41.596	5.405
39	301.1	286.9	14.2	57.167	6.241
40	302.7	288.6	14.1	68.88	6.790
41	304.1	290.4	13.7	83.91	7.425
42	305.1	292.1	13.0	101.10	8.078
43	305.9	293.7	12.2	120.49	8.746
44	306.4	295.0	11.4	138.95	9.329
45	306.4	296.5	9.9	163.79	10.050
46	306.4	297.3	9.1	178.81	10.457

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _H MIN	F _H MIN
47	306.1	297.6	8.5	184.78	10.614
48	305.7	296.8	8.9	169.27	10.200
49	305.2	296.3	8.9	160.24	9.950
50	304.4	296.7	7.7	167.42	10.150
51	303.3	296.6	6.7	165.60	10.100
52	297.4	287.3	10.1	59.73	6.366
53	257.4	232.5	24.9	0.147	0.420
54	233.0	194.7	38.3	0.002	0.064
55	222.1	179.0	43.1	0.000	0.030
56	210.3	176.1	34.2	0.000	0.026
57	205.4	176.0	29.4	0.000	0.025
58	204.1	172.9	31.2	0.000	0.022
59	202.7	168.3	34.4	0.000	0.017
60	202.4	163.1	39.3	0.000	0.013
61	199.8	156.3	43.5	0.000	0.010
62	198.4	151.6	46.8	0.000	0.008
63	196.6	147.9	48.7	0.000	0.006
64	195.9	143.5	52.4	0.000	0.005
65	196.9	137.6	59.3	0.000	0.004
66	198.9	130.8	68.1	0.000	0.003

F_H ACUMULADO
F_H MÍNIMO ALCANZADO

1936.8	155.25
1924	142.88
Z=21	Z=46.4

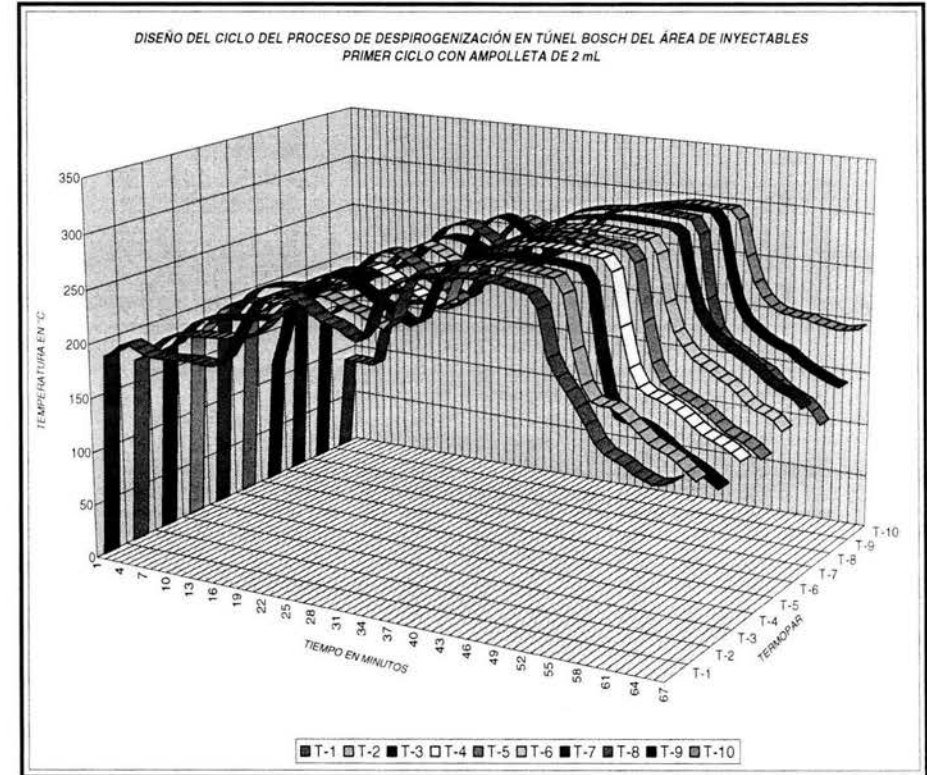


Figura 19. Diseño de los ciclos de despirogenización primer ciclo con cámara con carga

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.		
1	66.9	54.4	12.5	0.000	0.000
2	71.8	55.7	16.1	0.000	0.000
3	76.1	56.2	19.9	0.000	0.000
4	77.2	57.1	20.1	0.000	0.000
5	77.1	60.5	16.6	0.000	0.000
6	77.4	61.1	16.3	0.000	0.000
7	74.5	62.6	11.9	0.000	0.000
8	76.2	61.1	15.1	0.000	0.000
9	83.4	60.5	22.9	0.000	0.000
10	87.6	60.2	27.4	0.000	0.000
11	92.3	60.6	31.7	0.000	0.000
12	111.7	67.0	44.7	0.000	0.000
13	149.1	84.0	65.1	0.000	0.000
14	189.9	93.3	96.6	0.000	0.000
15	224.4	93.6	130.8	0.000	0.000
16	241.5	93.3	148.2	0.000	0.000
17	248.2	164.5	83.7	0.000	0.014
18	247.2	159.7	87.5	0.000	0.011
19	245.7	150.2	95.5	0.000	0.007
20	246.1	145.7	100.4	0.000	0.006
21	247.0	146.9	100.1	0.000	0.006
22	247.5	147.7	99.8	0.000	0.006
23	248.7	151.3	97.4	0.000	0.007
24	249.8	155.7	94.1	0.000	0.009
25	248.3	153.4	94.9	0.000	0.008
26	248.7	151.6	97.1	0.000	0.008
27	249.9	156.3	93.6	0.000	0.010
28	250.4	159.2	91.2	0.000	0.011
29	256.5	177.3	79.2	0.000	0.027
30	268.9	224.6	44.3	0.062	0.284
31	278.6	257.6	21.0	2.301	1.458
32	283.9	270.9	13.0	9.891	2.821
33	288.0	279.5	8.5	25.396	4.323
34	291.1	284.3	6.8	42.987	5.486
35	293.5	286.7	6.8	55.926	6.179
36	295.2	288.8	6.4	70.41	6.858
37	296.4	290.7	5.7	86.72	7.536
38	297.3	292.7	4.6	107.98	8.323
39	297.9	294.0	3.9	124.52	8.877
40	298.3	294.8	3.5	135.94	9.237
41	298.6	295.6	3.0	148.40	9.611
42	298.7	296.3	2.4	160.24	9.950
43	298.8	296.5	2.3	163.79	10.050
44	298.7	296.8	1.9	169.27	10.200
45	298.8	296.9	1.9	171.13	10.251
46	298.9	297.1	1.8	174.93	10.353

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.		
47	299.1	297.4	1.7	180.78	10.509
48	299.4	297.8	1.6	188.88	10.719
49	300.2	298.2	2.0	197.35	10.934
50	301.4	298.6	2.8	206.20	11.154
51	303.6	299.1	4.5	217.82	11.434
52	306.2	299.7	6.5	232.63	11.779
53	307.8	300.1	7.7	243.06	12.015
54	307.9	300.3	7.6	248.45	12.135
55	306.9	300.4	6.5	251.19	12.196
56	305.3	300.7	4.6	259.59	12.379
57	303.6	300.3	3.3	248.45	12.135
58	301.9	299.0	2.9	215.44	11.377
59	300.0	297.1	2.9	174.93	10.353
60	297.4	294.7	2.7	134.45	9.191
61	294.0	291.6	2.4	95.71	7.880
62	290.4	284.3	6.1	42.987	5.486
63	285.8	273.6	12.2	13.299	3.226
64	278.3	254.8	23.5	1.693	1.269
65	274.1	242.1	32.0	0.421	0.676
66	265.3	223.9	41.4	0.057	0.274
67	243.5	183.5	60.0	0.001	0.037
68	236.6	178.5	58.1	0.000	0.029
69	241.0	172.4	68.6	0.000	0.021
70	242.4	164.8	77.6	0.000	0.015
71	227.6	155.5	72.1	0.000	0.009
72	209.8	144.3	65.5	0.000	0.005
73	199.8	128.5	71.3	0.000	0.002
74	211.8	117.7	94.1	0.000	0.001
75	221.1	107.3	113.8	0.000	0.001
76	218.5	93.3	125.2	0.000	0.000

F _{II} ACUMULADO	4803.3	299.2
F _{II} MÍNIMO ALCANZADO	4802.71	297.69
Z=21	Z=46.4	

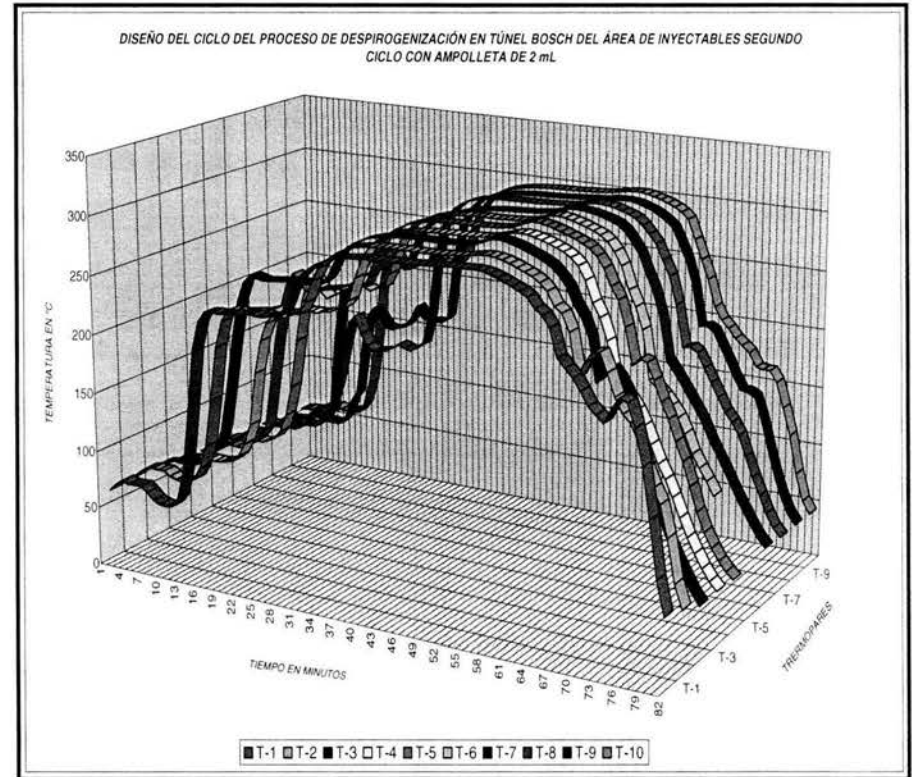


Figura 20. Diseño de los ciclos de despirogenización segundo ciclo con cámara con carga

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{II} MIN	F _{II} MIN
1	93.4	73.3	20.1	0.000	0.000
2	108.5	77.2	31.3	0.000	0.000
3	130.8	81.0	49.8	0.000	0.000
4	137.3	77.4	59.9	0.000	0.000
5	142.0	77.1	64.9	0.000	0.000
6	148.8	78.2	70.6	0.000	0.000
7	153.2	78.8	74.4	0.000	0.000
8	153.4	79.5	73.9	0.000	0.000
9	164.6	83.0	81.6	0.000	0.000
10	179.3	94.6	84.7	0.000	0.000
11	198.7	112.8	85.9	0.000	0.001
12	224.1	152.4	71.7	0.000	0.008
13	244.4	199.7	44.7	0.004	0.082
14	260.4	234.8	25.6	0.189	0.470
15	272.5	259.5	13.0	2.834	1.602
16	279.8	268.2	11.6	7.356	2.467
17	284.1	274.5	9.6	14.678	3.373
18	287.6	279.3	8.3	24.845	4.280
19	290.2	283.0	7.2	37.276	5.143
20	292.2	285.0	7.2	46.416	5.680
21	293.6	287.0	6.6	57.797	6.272
22	294.8	288.9	5.9	71.184	6.892
23	295.7	290.2	5.5	82.089	7.352
24	296.5	291.0	5.5	89.615	7.649
25	297.4	292.1	5.3	101.10	8.078
26	298.2	293.7	4.5	120.49	8.746
27	298.9	294.7	4.2	134.45	9.191
28	299.5	295.4	4.1	145.18	9.516
29	300.0	296.1	3.9	156.76	9.852
30	300.9	296.9	4.0	171.13	10.251
31	302.4	297.3	5.1	178.81	10.457
32	303.3	297.3	6.0	178.81	10.457
33	303.4	297.6	5.8	184.78	10.614
34	302.6	298.3	4.3	199.53	10.989
35	300.8	298.2	2.6	197.35	10.934
36	299.0	297.0	2.0	173.02	10.302
37	296.8	294.8	2.0	135.94	9.237
38	294.7	291.8	2.9	97.831	7.959
39	292.3	286.6	5.7	55.317	6.149
40	290.0	278.3	11.7	22.265	4.073
41	287.9	267.3	20.6	6.665	2.360
42	289.9	267.0	22.9	6.449	2.325
43	291.5	264.3	27.2	4.797	2.033
44	269.2	231.1	38.1	0.126	0.391
45	272.5	233.1	39.4	0.157	0.432
46	279.4	227.9	51.5	0.089	0.334

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{II} MIN	F _{II} MIN
47	277.6	218.2	59.4	0.031	0.206
48	267.6	208.9	58.7	0.011	0.130
49	259.9	205.3	54.6	0.007	0.109
50	253.3	206.0	47.3	0.008	0.113
51	253.2	210.5	42.7	0.013	0.141
52	250.7	212.1	38.6	0.016	0.152
53	240.0	208.0	32.0	0.010	0.124
54	231.9	198.6	33.3	0.004	0.078
55	222.4	185.5	36.9	0.001	0.041
56	215.0	168.0	47.0	0.000	0.017
57	185.7	135.9	49.8	0.000	0.003
58	182.7	112.5	70.2	0.000	0.001
59	174.7	97.6	77.1	0.000	0.001
60	144.3	82.0	62.3	0.000	0.000

F_{II} ACUMULADO
F_{II} MÍNIMO ALCANZADO

2705.4	207.07
2704.8	204.2
Z=21	Z=46.4

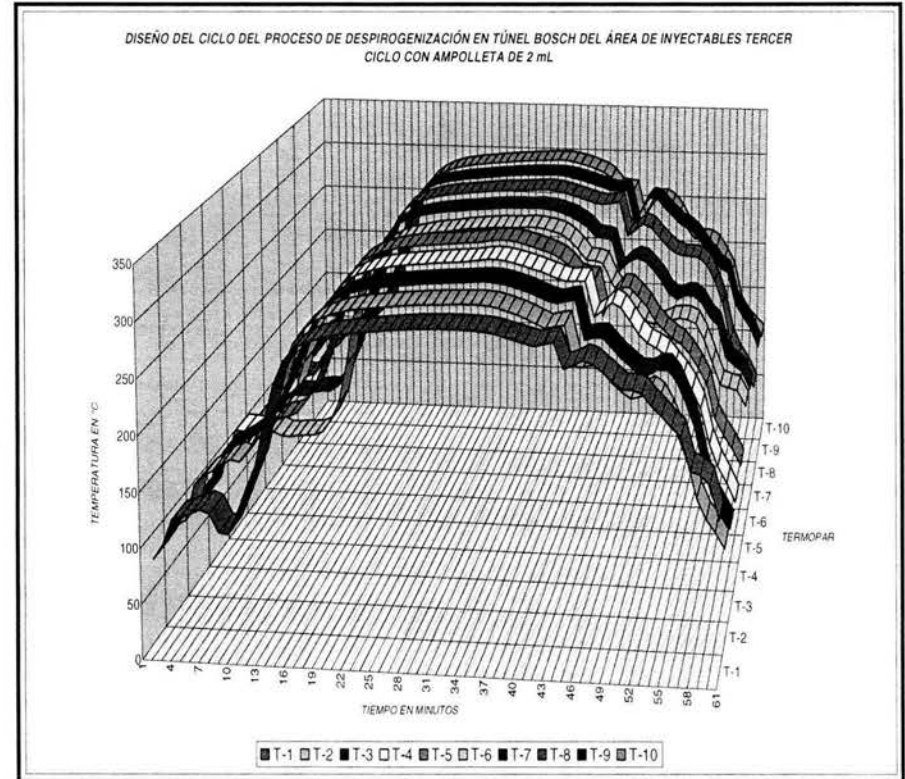


Figura 21. Diseño de los ciclos de despirogenización tercer ciclo con cámara con carga

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21		Z=46.4	
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{II} MIN	F _{II} MIN	F _{II} MIN	F _{II} MIN
1	121.8	65.3	56.5	0.000	0.000		
2	122.5	67.5	55.0	0.000	0.000		
3	122.7	65.8	56.9	0.000	0.000		
4	123.3	65.9	57.4	0.000	0.000		
5	127.8	67.7	60.1	0.000	0.000		
6	147.4	76.0	71.4	0.000	0.000		
7	176.6	92.5	84.1	0.000	0.000		
8	201.6	110.5	91.1	0.000	0.001		
9	223.9	153.7	70.2	0.000	0.008		
10	242.6	194.9	47.7	0.002	0.065		
11	255.4	229.0	26.4	0.100	0.353		
12	264.6	245.3	19.3	0.597	0.792		
13	270.4	250.8	19.6	1.092	1.040		
14	273.6	257.8	15.8	2.352	1.473		
15	276.6	257.3	19.3	2.226	1.437		
16	281.4	261.3	20.1	3.452	1.752		
17	285.3	265.6	19.7	5.532	2.169		
18	288.0	270.9	17.1	9.891	2.821		
19	289.8	276.3	13.5	17.881	3.688		
20	290.8	278.4	12.4	22.510	4.093		
21	291.8	280.3	11.5	27.724	4.498		
22	292.3	282.2	10.1	34.145	4.943		
23	292.4	282.7	9.7	36.070	5.067		
24	292.7	283.3	9.4	38.522	5.220		
25	293.1	283.7	9.4	40.250	5.325		
26	293.5	284.3	9.2	42.987	5.486		
27	293.5	284.6	8.9	44.424	5.568		
28	293.8	285.2	8.6	47.445	5.736		
29	294.0	285.6	8.4	49.572	5.851		
30	294.3	286.2	8.1	52.943	6.028		
31	294.5	286.9	7.6	57.167	6.241		
32	294.7	287.3	7.4	59.730	6.366		
33	294.8	287.7	7.1	62.408	6.494		
34	294.8	287.9	6.9	63.791	6.559		
35	295.0	288.5	6.5	68.13	6.757		
36	295.0	288.7	6.3	69.64	6.824		
37	294.4	288.0	6.4	64.495	6.591		
38	294.2	286.7	7.5	55.926	6.179		
39	294.0	284.6	9.4	44.424	5.568		
40	293.3	278.8	14.5	23.519	4.175		
41	293.1	269.3	23.8	8.299	2.606		
42	290.1	260.0	30.1	2.994	1.643		
43	287.7	253.2	34.5	1.420	1.172		
44	285.1	248.2	36.9	0.821	0.915		
45	283.2	243.9	39.3	0.512	0.739		
46	282.4	239.6	42.8	0.320	0.597		

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21		Z=46.4	
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{II} MIN	F _{II} MIN	F _{II} MIN	F _{II} MIN
47	280.4	236.5	43.9	0.228	0.512		
48	277.6	233.2	44.4	0.158	0.434		
49	273.4	229.8	43.6	0.109	0.367		
50	265.6	225.2	40.4	0.066	0.292		
51	259.6	221.3	38.3	0.043	0.241		
52	257.7	219.2	38.5	0.034	0.217		
53	255.0	217.7	37.3	0.029	0.201		
54	251.5	213.0	38.5	0.017	0.159		
55	246.4	205.6	40.8	0.008	0.110		
56	243.2	197.9	45.3	0.003	0.075		
57	240.5	191.0	49.5	0.002	0.054		
58	234.7	187.1	47.6	0.001	0.044		
59	230.1	185.3	44.8	0.001	0.040		
60	225.3	186.7	38.6	0.001	0.043		
61	222.6	184.7	37.9	0.001	0.039		
62	217.3	182.4	34.9	0.001	0.035		
63	211.1	177.7	33.4	0.000	0.028		
64	203.0	174.9	28.1	0.000	0.024		
65	194.6	168.6	26.0	0.000	0.018		
66	199.4	160.4	39.0	0.000	0.012		
67	192.6	146.5	46.1	0.000	0.006		
68	199.8	132.3	67.5	0.000	0.003		
69	200.4	119.9	80.5	0.000	0.002		
70	191.4	110.7	80.7	0.000	0.001		
71	172.5	102.2	70.3	0.000	0.001		
72	148.7	94.7	54.0	0.000	0.000		
73	113.6	83.6	30.0	0.000	0.000		
74	86.6	68.9	17.7	0.000	0.000		

F _{II} ACUMULADO	1064.0	145.80
F _{II} MÍNIMO ALCANZADO	1056.5	136.55
Z=21	Z=46.4	

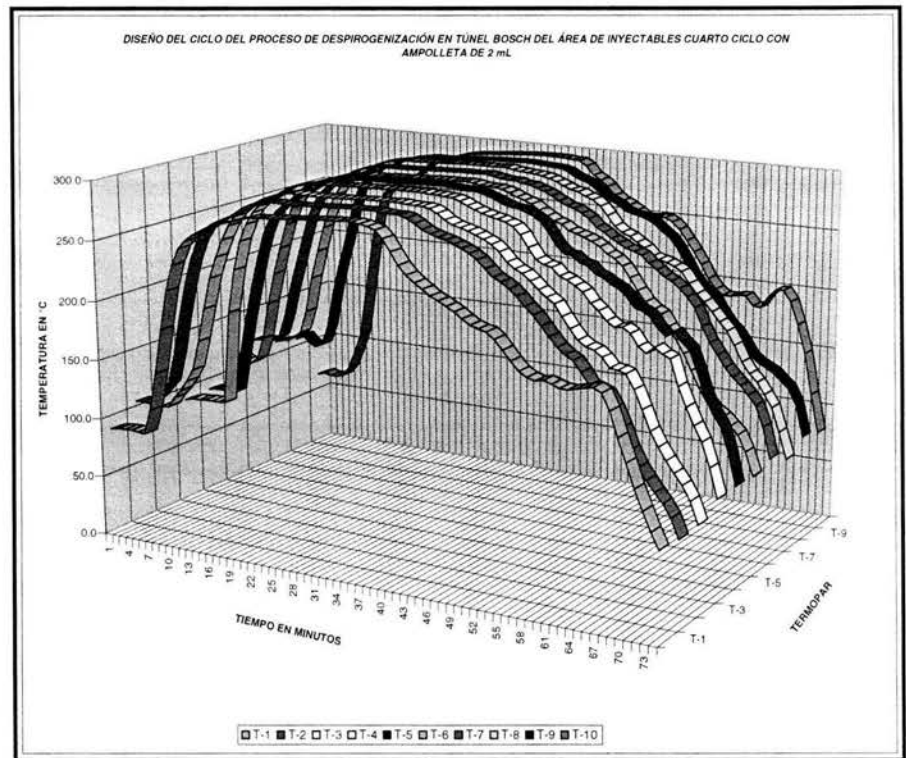


Figura 22. Diseño de los ciclos de despirogenización cuarto ciclo con cámara con carga

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.		
1	193.8	87.6	106.2	0.000	0.000
2	221.8	121.0	100.8	0.000	0.002
3	247.0	185.3	61.7	0.001	0.040
4	259.8	226.3	33.5	0.074	0.308
5	271.8	251.3	20.5	1.153	1.067
6	277.1	260.4	16.7	3.128	1.675
7	284.7	267.5	17.2	6.813	2.383
8	292.0	271.2	20.8	10.222	2.863
9	288.2	273.3	14.9	12.868	3.178
10	295.0	277.0	18.0	19.307	3.819
11	291.6	280.7	10.9	28.967	4.588
12	292.2	280.9	11.3	29.609	4.634
13	292.7	282.8	9.9	36.467	5.092
14	293.3	285.6	7.7	49.572	5.851
15	293.6	285.6	8.0	49.572	5.851
16	293.5	285.3	8.2	47.968	5.765
17	293.3	283.5	9.8	39.377	5.272
18	293.7	280.8	12.9	29.286	4.611
19	295.1	277.9	17.2	21.309	3.993
20	294.5	276.0	18.5	17.302	3.634
21	293.0	274.0	19.0	13.895	3.290
22	293.9	272.1	21.8	11.282	2.994
23	295.6	269.3	26.3	8.299	2.606
24	294.4	267.1	27.3	6.521	2.336
25	294.4	266.6	27.8	6.173	2.279
26	293.0	269.9	23.1	8.864	2.685
27	292.3	265.4	26.9	5.412	2.147
28	290.1	261.0	29.1	3.340	1.726
29	287.8	257.5	30.3	2.276	1.451
30	287.2	255.2	32.0	1.769	1.294
31	284.7	247.0	37.7	0.720	0.862
32	284.0	236.2	47.8	0.220	0.504
33	285.7	233.6	52.1	0.166	0.443
34	283.5	237.3	46.2	0.248	0.532
35	270.7	237.6	33.1	0.257	0.540
36	271.9	231.8	40.1	0.136	0.405
37	278.0	230.9	47.1	0.123	0.388
38	278.1	224.2	53.9	0.059	0.278
39	267.5	216.5	51.0	0.025	0.190
40	263.1	206.0	57.1	0.008	0.113
41	248.9	192.3	56.6	0.002	0.057
42	245.2	154.7	90.5	0.000	0.009
43	256.1	164.4	91.7	0.000	0.014
44	257.5	175.4	82.1	0.000	0.025
45	253.7	177.5	76.2	0.000	0.027
46	236.1	176.9	59.2	0.000	0.027

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.		
47	225.4	175.1	50.3	0.000	0.024
48	221.1	174.0	47.1	0.000	0.023
49	216.5	173.0	43.5	0.000	0.022
50	216.2	173.5	42.7	0.000	0.022
51	220.4	172.9	47.5	0.000	0.022
52	224.5	170.7	53.8	0.000	0.020
53	219.7	170.3	49.4	0.000	0.019
54	235.8	169.4	66.4	0.000	0.018
55	254.1	167.3	195.1	0.000	0.017

F_{II} ACUMULADO
F_{II} MÍNIMO ALCANZADO

472.79	92.04
470.75	87.09
Z=21	Z=46.4

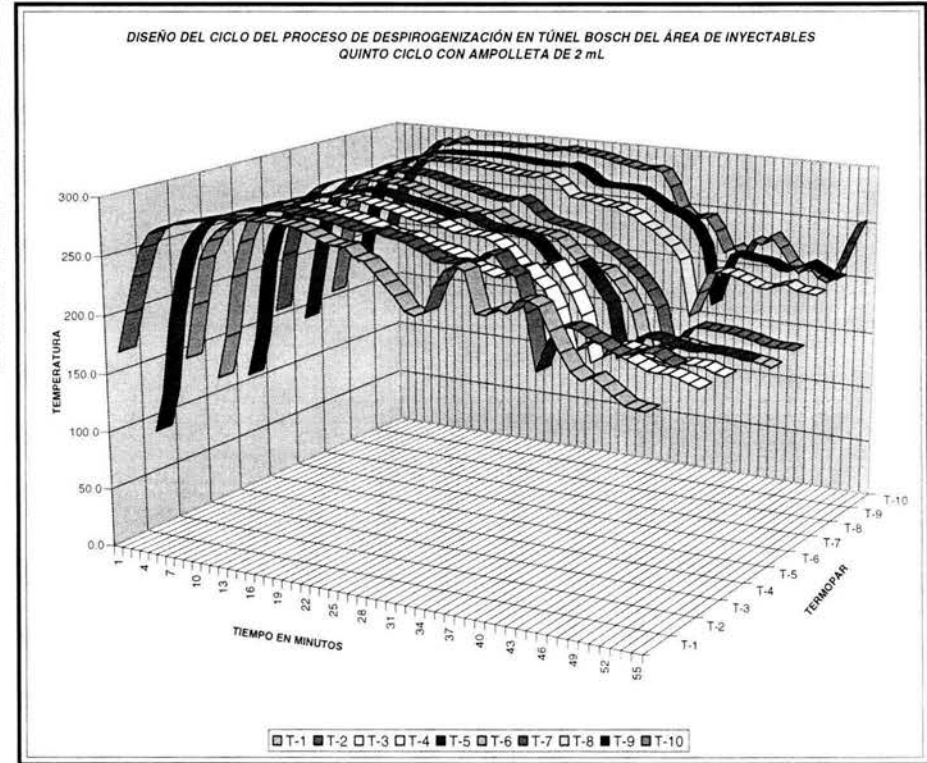


Figura 23. Diseño de los ciclos de despirogenización quinto ciclo con cámara con carga

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21		Z=46.4	
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F ₁₁ MIN	F ₁₁ MIN	F ₁₁ MIN	F ₁₁ MIN
1	134.9	81.2	53.7	0.000	0.000		
2	138.9	81.2	57.7	0.000	0.000		
3	143.7	79.1	64.6	0.000	0.000		
4	148.6	76.5	72.1	0.000	0.000		
5	159.0	78.6	80.4	0.000	0.000		
6	175.6	81.3	94.3	0.000	0.000		
7	199.2	90.4	108.8	0.000	0.000		
8	222.7	90.8	131.9	0.000	0.000		
9	239.7	91.2	148.5	0.000	0.000		
10	249.3	137.7	111.6	0.000	0.004		
11	259.5	214.4	45.1	0.020	0.171		
12	264.9	234.2	30.7	0.177	0.457		
13	269.8	245.8	24.0	0.631	0.812		
14	274.7	253.1	21.6	1.405	1.166		
15	279.1	259.0	20.1	2.683	1.563		
16	281.5	263.0	18.5	4.160	1.906		
17	283.5	266.2	17.3	5.908	2.234		
18	285.6	269.2	16.4	8.209	2.593		
19	287.6	271.8	15.8	10.917	2.950		
20	288.8	273.5	15.3	13.154	3.210		
21	290.4	274.8	15.6	15.169	3.424		
22	291.7	276.1	15.6	17.493	3.652		
23	291.5	276.5	15.0	18.277	3.725		
24	291.8	275.9	15.9	17.113	3.616		
25	291.9	275.0	16.9	15.505	3.458		
26	291.8	273.5	18.3	13.154	3.210		
27	292.1	273.4	18.7	13.010	3.194		
28	292.1	272.2	19.9	11.406	3.009		
29	292.1	271.6	20.5	10.680	2.921		
30	292.1	272.0	20.1	11.159	2.979		
31	292.2	272.1	20.1	11.282	2.994		
32	290.9	272.4	18.5	11.659	3.039		
33	291.1	271.2	19.9	10.222	2.863		
34	292.3	269.8	22.5	8.767	2.671		
35	291.4	268.6	22.8	7.686	2.517		
36	291.0	267.6	23.4	6.888	2.395		
37	291.2	268.1	23.1	7.276	2.455		
38	292.1	269.4	22.7	8.391	2.619		
39	292.8	270.8	22.0	9.783	2.807		
40	293.2	268.9	24.3	7.943	2.555		
41	293.4	267.7	25.7	6.964	2.407		
42	293.9	269.6	24.3	8.577	2.645		
43	294.6	268.4	26.2	7.520	2.492		
44	293.8	265.6	28.2	5.532	2.169		
45	293.3	262.7	30.6	4.025	1.878		
46	288.2	258.9	29.3	2.653	1.555		

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21		Z=46.4	
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F ₁₁ MIN	F ₁₁ MIN	F ₁₁ MIN	F ₁₁ MIN
47	286.0	256.8	29.2	2.108	1.401		
48	280.9	253.0	27.9	1.389	1.161		
49	283.1	244.4	38.7	0.541	0.757		
50	286.1	234.8	51.3	0.189	0.470		
51	290.9	226.7	64.2	0.078	0.315		
52	291.3	221.1	70.2	0.042	0.238		
53	284.2	217.0	67.2	0.027	0.194		
54	253.3	187.7	65.6	0.001	0.045		
55	232.4	154.3	78.1	0.000	0.009		
56	236.4	132.3	104.1	0.000	0.003		
57	238.0	116.6	121.4	0.000	0.001		
58	238.8	105.1	133.7	0.000	0.001		
59	237.6	96.3	141.3	0.000	0.000		
60	236.9	89.4	147.5	0.000	0.000		

F₁₁ ACUMULADO
F₁₁ MÍNIMO ALCANZADO

319.77	94.91
318.07	91.43
Z=21	Z=46.4

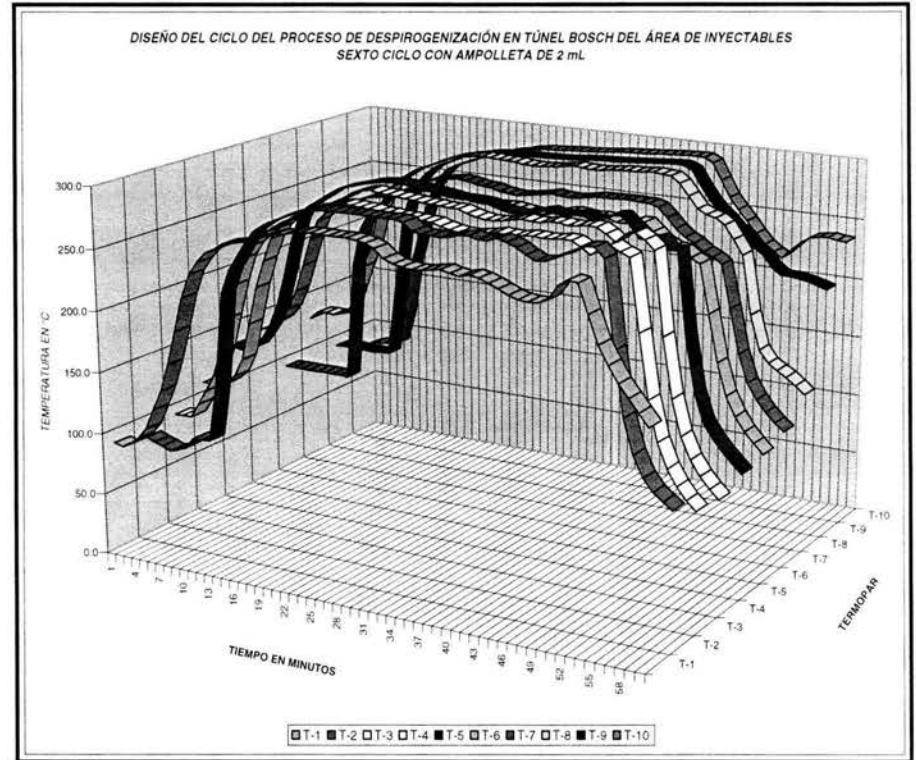


Figura 24. Diseño de los ciclos de despirogenización sexto ciclo con cámara con carga

7.3 CALIFICACION DEL FUNCIONAMIENTO

7.3.1 ESTUDIO DE PENETRACION DE CALOR CON CÁMARA CON CARGA (VALIDACION DEL PROCESO DE DEPIROGENIZACION)

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21		Z=46.4	
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{HT} MIN	F _{HT} MIN	F _{HT} MIN	F _{HT} MIN
1	74.0	38.9	35.1	0.000	0.000		
2	74.2	39.9	34.3	0.000	0.000		
3	74.7	44.7	30.0	0.000	0.000		
4	75.1	47.5	27.6	0.000	0.000		
5	75.2	54.2	21.0	0.000	0.000		
6	75.5	49.1	26.4	0.000	0.000		
7	76.1	52.1	24.0	0.000	0.000		
8	76.5	50.4	26.1	0.000	0.000		
9	76.4	50.1	26.3	0.000	0.000		
10	76.8	52.0	24.8	0.000	0.000		
11	77.8	56.3	21.5	0.000	0.000		
12	79.8	57.4	22.4	0.000	0.000		
13	88.3	73.8	14.5	0.000	0.000		
14	103.8	88.5	15.3	0.000	0.000		
15	135.7	97.0	38.7	0.000	0.001		
16	177.4	97.5	79.9	0.000	0.001		
17	214.4	164.3	50.1	0.000	0.014		
18	247.7	196.4	51.3	0.002	0.070		
19	266.6	221.3	45.3	0.037	0.241		
20	279.5	238.1	41.4	0.254	0.554		
21	286.4	250.0	36.4	1.000	1.000		
22	289.7	259.2	30.5	2.884	1.579		
23	292.0	268.0	24.0	7.943	2.443		
24	293.8	276.3	17.5	20.654	3.688		
25	295.1	282.2	12.9	40.738	4.943		
26	296.7	286.2	10.5	64.565	6.028		
27	297.9	289.1	8.8	90.157	6.961		
28	298.8	291.0	7.8	112.20	7.649		
29	299.7	292.2	7.5	128.82	8.119		
30	300.6	293.4	7.2	147.91	8.617		
31	301.4	294.6	6.8	169.82	9.145		
32	302.0	295.6	6.4	190.55	9.611		
33	302.5	296.4	6.1	208.93	10.000		
34	302.9	296.5	6.4	211.35	10.050		
35	303.2	296.4	6.8	208.93	10.000		
36	303.4	296.2	7.2	204.17	9.901		
37	303.5	295.9	7.6	197.24	9.755		
38	303.5	296.2	7.3	158.49	9.901		
39	303.3	296.8	6.5	218.78	10.200		
40	303.0	297.3	5.7	231.74	10.457		
41	302.7	297.7	5.0	242.66	10.666		
42	302.5	298.0	4.5	251.19	10.826		
43	302.7	298.1	4.6	254.10	10.880		
44	303.4	298.3	5.1	260.02	10.989		
45	303.4	298.4	5.0	263.03	11.043		
46	303.1	298.3	4.8	260.02	10.989		

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21		Z=46.4	
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{HT} MIN	F _{HT} MIN	F _{HT} MIN	F _{HT} MIN
47	302.7	298.3	4.4	260.02	10.989		
48	302.4	298.0	4.4	251.19	10.826		
49	302.0	297.7	4.3	242.66	10.666		
50	301.7	297.5	4.2	237.14	10.561		
51	301.5	297.5	4.0	237.14	10.561		
52	301.3	297.5	3.8	237.14	10.561		
53	301.0	297.3	3.7	231.74	10.457		
54	300.7	297.1	3.6	226.46	10.353		
55	300.2	296.6	3.6	213.80	10.100		
56	299.5	295.7	3.8	192.75	9.659		
57	299.0	294.9	4.1	175.79	9.283		
58	298.0	293.6	4.4	151.36	8.703		
59	295.7	267.5	28.2	7.499	2.383		
60	277.2	149.2	128.0	0.000	0.007		
61	211.1	85.0	126.1	0.000	0.000		
62	132.4	59.0	73.4	0.000	0.000		
63	83.7	48.1	35.6	0.000	0.000		
64	64.8	43.1	21.7	0.000	0.000		
65	55.2	40.3	14.9	0.000	0.000		
66	49.9	39.0	10.9	0.000	0.000		
67	46.3	38.4	7.9	0.000	0.000		
68	43.3	37.2	6.1	0.000	0.000		
69	40.5	35.8	4.7	0.000	0.000		
70	38.9	34.4	4.5	0.000	0.000		
71	38.0	32.7	5.3	0.000	0.000		
72	37.2	31.2	6.0	0.000	0.000		
73	35.6	30.0	5.6	0.000	0.000		
74	33.2	27.9	5.3	0.000	0.000		
75	29.1	26.0	3.1	0.000	0.000		
76	26.8	25.1	1.7	0.000	0.000		
77	27.6	25.4	2.2	0.000	0.000		
78	26.8	25.7	1.1	0.000	0.000		
79	29.0	24.2	4.8	0.000	0.000		

F_{HT} ACUMULADO
F_{HT} MÍNIMO ALCANZADO

6812.9	341.43
6808.7	337.96
Z=21	Z=46.4

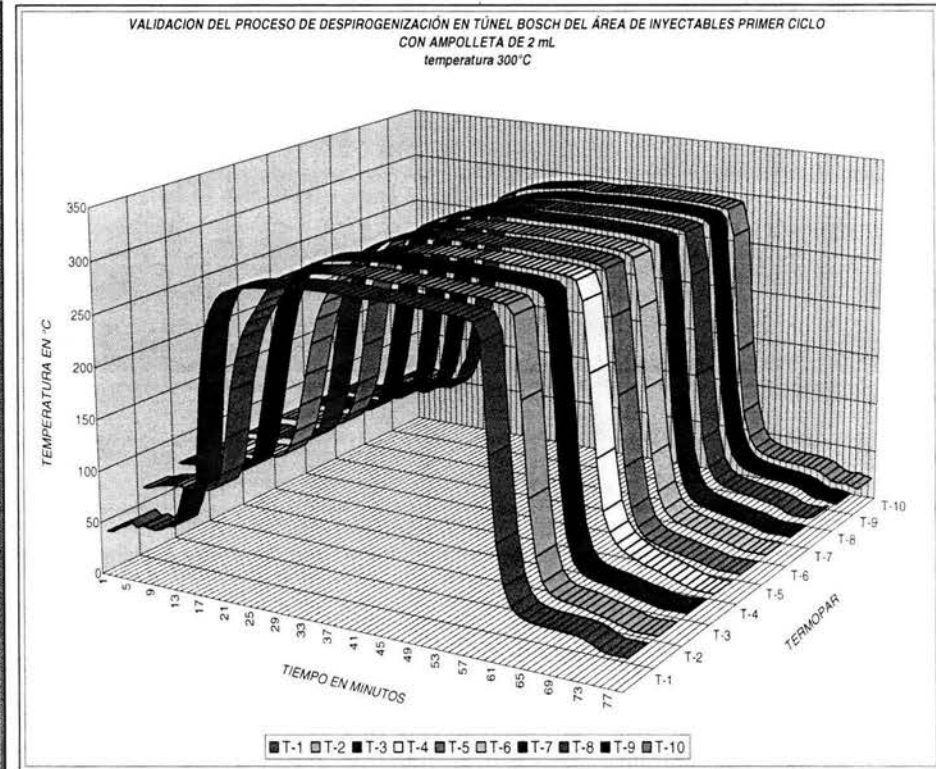


Figura 25. Penetración de calor con cámara con carga primer ciclo con ampollita de 2 mL

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21 F _{II} MIN	Z=46.4 F _{II} MIN
	MAXIMA	MINIMA	DIF.		
1	76.7	36.5	40.2	0.000	0.000
2	76.6	36.4	40.2	0.000	0.000
3	76.2	36.5	39.7	0.000	0.000
4	76.3	37.8	38.5	0.000	0.000
5	75.8	38.9	36.9	0.000	0.000
6	74.7	39.6	35.1	0.000	0.000
7	76.0	39.6	36.4	0.000	0.000
8	76.6	45.4	31.2	0.000	0.000
9	77.6	49.7	27.9	0.000	0.000
10	79.0	57.3	21.7	0.000	0.000
11	82.3	61.5	20.8	0.000	0.000
12	85.3	65.1	20.2	0.000	0.000
13	86.9	67.2	19.7	0.000	0.000
14	87.4	68.2	19.2	0.000	0.000
15	87.7	68.7	19.0	0.000	0.000
16	87.8	68.6	19.2	0.000	0.000
17	88.0	68.5	19.5	0.000	0.000
18	88.2	68.6	19.6	0.000	0.000
19	88.3	68.9	19.4	0.000	0.000
20	88.4	69.1	19.3	0.000	0.000
21	88.5	68.9	19.6	0.000	0.000
22	88.6	68.7	19.9	0.000	0.000
23	88.7	68.7	20.0	0.000	0.000
24	88.7	68.8	19.9	0.000	0.000
25	88.7	68.8	19.9	0.000	0.000
26	90.6	73.8	16.8	0.000	0.000
27	106.8	82.4	24.4	0.000	0.000
28	159.1	96.4	62.7	0.000	0.000
29	213.8	96.6	117.2	0.000	0.000
30	242.3	96.7	145.6	0.000	0.000
31	260.9	96.8	164.1	0.000	0.000
32	272.8	190.5	82.3	0.001	0.052
33	280.6	222.5	58.1	0.042	0.255
34	284.9	248.9	36.0	0.881	0.947
35	287.5	259.8	27.7	3.090	1.626
36	289.6	266.1	23.5	6.383	2.223
37	291.1	272.1	19.0	12.735	2.994
38	293.2	277.1	16.1	22.646	3.838
39	295.6	281.8	13.8	38.904	4.846
40	297.6	283.1	14.5	45.185	5.168
41	298.9	285.6	13.3	60.256	5.851
42	299.8	287.1	12.7	71.61	6.303
43	300.5	287.3	13.2	73.28	6.366
44	301.1	289.0	12.1	89.13	6.927
45	301.7	290.4	11.3	104.71	7.425
46	302.2	291.9	10.3	124.45	7.999

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21 F _{II} MIN	Z=46.4 F _{II} MIN
	MAXIMA	MINIMA	DIF.		
47	302.6	293.0	9.6	141.25	8.447
48	303.1	294.2	8.9	162.18	8.966
49	303.3	294.8	8.5	173.78	9.237
50	303.3	294.9	8.4	175.79	9.283
51	303.1	295.3	7.8	184.08	9.469
52	302.7	295.4	7.3	186.21	9.516
53	302.3	296.0	6.3	199.53	9.803
54	302.0	296.6	5.4	213.80	10.100
55	301.9	297.1	4.8	226.46	10.353
56	301.7	297.1	4.6	226.46	10.353
57	301.7	297.3	4.4	231.74	10.457
58	301.5	297.5	4.0	237.14	10.561
59	301.4	297.5	3.9	237.14	10.561
60	301.1	297.4	3.7	234.42	10.509
61	300.9	297.6	3.3	239.88	10.614
62	300.6	297.5	3.1	237.14	10.561
63	300.3	297.4	2.9	234.42	10.509
64	299.9	297.3	2.6	231.74	10.457
65	299.2	297.1	2.1	226.46	10.353
66	297.6	294.1	3.5	160.32	8.921
67	296.5	269.2	27.3	9.12	2.593
68	293.1	215.5	77.6	0.019	0.180
69	237.1	131.4	105.7	0.000	0.003
70	145.9	80.5	65.4	0.000	0.000
71	94.9	56.2	38.7	0.000	0.000
72	73.1	45.5	27.6	0.000	0.000
73	62.0	40.6	21.4	0.000	0.000
74	54.8	37.8	17.0	0.000	0.000
75	50.8	36.0	14.8	0.000	0.000
76	46.4	34.4	12.0	0.000	0.000
77	43.2	33.0	10.2	0.000	0.000
78	41.2	32.2	9.0	0.000	0.000
79	39.0	31.3	7.7	0.000	0.000
80	37.2	29.9	7.3	0.000	0.000
81	36.9	28.4	8.5	0.000	0.000
82	37.2	27.3	9.9	0.000	0.000
83	36.1	26.8	9.3	0.000	0.000

F _{II} ACUMULADO	4822.4	264.63
F _{II} MÍNIMO ALCANZADO	4821.5	263.19
Z=21	Z=46.4	

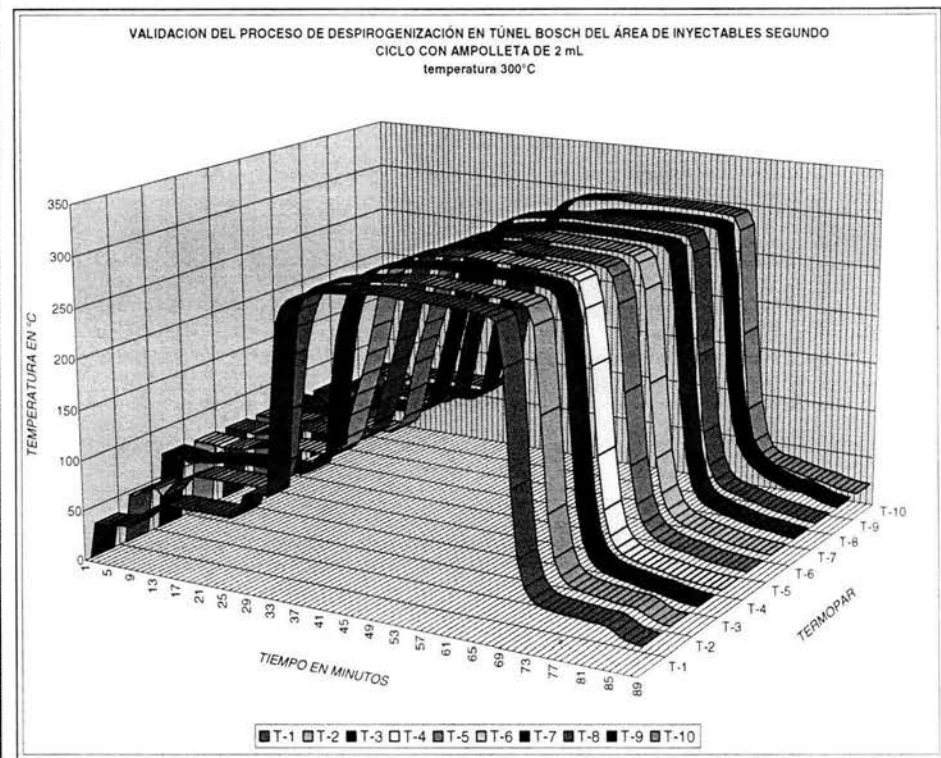


Figura 26. Penetración de calor con cámara con carga segundo ciclo con ampollita de 2 mL

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{II} MIN	F _{II} MIN
1	68.7	37.3	31.4	0.000	0.000
2	70.5	37.3	33.2	0.000	0.000
3	73.6	37.4	36.2	0.000	0.000
4	75.1	37.8	37.3	0.000	0.000
5	75.8	38.4	37.4	0.000	0.000
6	76.0	39.3	36.7	0.000	0.000
7	74.8	39.8	35.0	0.000	0.000
8	74.9	42.6	32.3	0.000	0.000
9	75.8	52.6	23.2	0.000	0.000
10	76.9	54.6	22.3	0.000	0.000
11	77.3	55.0	22.3	0.000	0.000
12	77.9	52.7	25.2	0.000	0.000
13	78.5	52.6	25.9	0.000	0.000
14	79.6	55.4	24.2	0.000	0.000
15	83.4	59.5	23.9	0.000	0.000
16	98.4	78.1	20.3	0.000	0.000
17	123.9	90.1	33.8	0.000	0.000
18	177.0	96.5	80.5	0.000	0.000
19	222.7	96.5	126.2	0.000	0.000
20	253.0	96.5	156.5	0.000	0.000
21	273.7	97.2	176.5	0.000	0.001
22	285.0	244.6	40.4	0.537	0.765
23	290.6	268.0	22.6	7.943	2.443
24	293.8	278.5	15.3	26.607	4.114
25	296.1	282.9	13.2	44.157	5.117
26	297.7	285.7	12.0	60.953	5.880
27	298.9	288.3	10.6	66.65	6.690
28	299.9	290.1	9.8	81.19	7.315
29	300.8	291.5	9.3	94.67	7.841
30	301.4	292.6	8.8	106.80	8.281
31	302.0	294.0	8.0	124.52	8.877
32	302.4	295.1	7.3	140.48	9.375
33	302.7	295.6	7.1	148.40	9.611
34	302.9	296.3	6.6	160.24	9.950
35	303.1	296.8	6.3	169.27	10.200
36	303.5	296.8	6.7	169.27	10.200
37	303.6	296.4	7.2	162.00	10.000
38	303.7	296.5	7.2	163.79	10.050
39	303.8	296.8	7.0	169.27	10.200
40	304.1	296.9	7.2	171.13	10.251
41	304.2	297.1	7.1	174.93	10.353
42	303.9	297.6	6.3	184.78	10.614
43	303.4	298.1	5.3	195.20	10.880
44	303.1	298.5	4.6	203.95	11.098
45	302.9	298.7	4.2	208.47	11.209
46	302.9	298.9	4.0	213.09	11.321

No de Reg.	TEMPERATURA			Z=21	Z=46.4
	MAXIMA	MINIMA	DIF.	F _{II} MIN	F _{II} MIN
47	302.8	298.9	3.9	213.09	11.321
48	302.7	298.9	3.8	213.09	11.321
49	302.6	298.9	3.7	213.09	11.321
50	302.4	298.9	3.5	213.09	11.321
51	302.3	298.9	3.4	213.09	11.321
52	302.0	298.8	3.2	210.77	11.265
53	301.5	298.6	2.9	206.20	11.154
54	301.0	298.2	2.8	197.35	10.934
55	300.6	298.0	2.6	193.07	10.826
56	299.6	297.5	2.1	182.77	10.561
57	298.0	290.1	7.9	81.19	7.315
58	297.0	279.3	17.7	29.174	4.280
59	295.5	256.2	39.3	2.042	1.360
60	286.7	199.6	87.1	0.003	0.082
61	212.1	129.9	82.2	0.000	0.003
62	122.8	79.4	43.4	0.000	0.000
63	78.6	56.3	22.3	0.000	0.000
64	60.7	47.6	13.1	0.000	0.000
65	53.1	44.1	9.0	0.000	0.000
66	47.5	41.9	5.6	0.000	0.000
67	44.9	40.7	4.2	0.000	0.000
68	43.5	39.5	4.0	0.000	0.000
69	42.9	38.1	4.8	0.000	0.000
70	41.7	37.0	4.7	0.000	0.000
71	40.5	36.0	4.5	0.000	0.000
72	40.0	35.4	4.6	0.000	0.000
73	39.4	34.1	5.3	0.000	0.000
74	38.4	32.7	5.7	0.000	0.000
75	37.4	31.2	6.2	0.000	0.000
76	35.7	30.3	5.4	0.000	0.000
77	32.9	29.1	3.8	0.000	0.000
78	29.7	27.9	1.8	0.000	0.000
79	28.2	26.6	1.6	0.000	0.000
80	27.3	25.9	1.4	0.000	0.000
81	27.0	25.6	1.4	0.000	0.000
82	27.4	25.7	1.7	0.000	0.000
83	28.3	26.1	2.2	0.000	0.000

F_{II} ACUMULADO
F_{II} MÍNIMO ALCANZADO

5413.8	334.81
5350.0	324.0
Z=21	Z=46.4

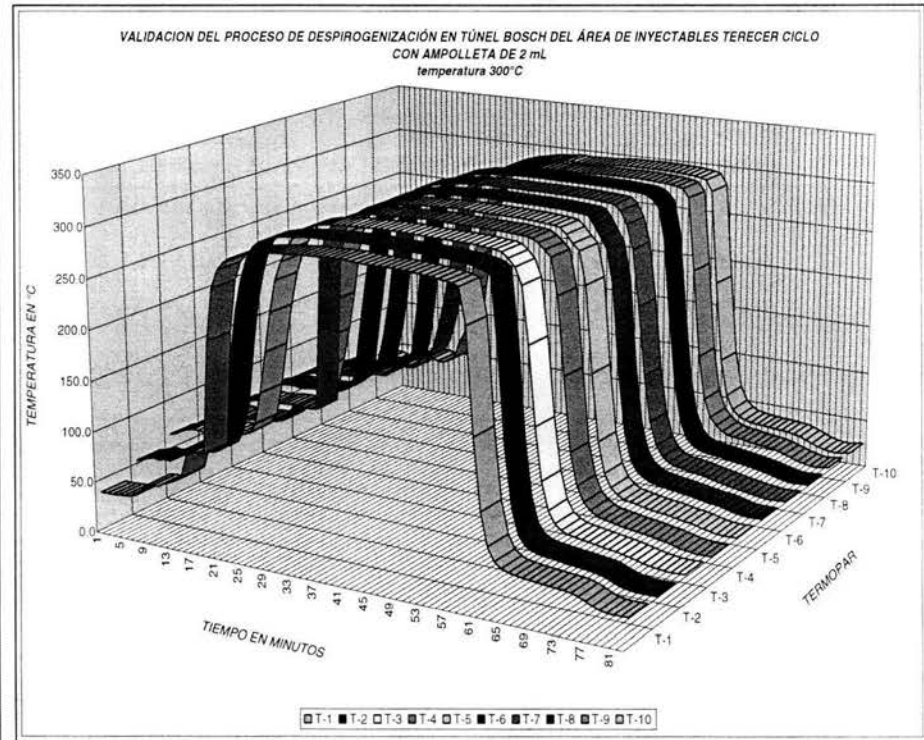


Figura 27. Penetración de calor con cámara con carga tercer ciclo con ampolleta de 2 mL

7.3.2 CÁLCULO DE F_H Y EVALUACIÓN DE LA PRUEBA DE LAL

Ciclo a 300°C: Resultado esperado, $F_H= 30$ minutos, estabilidad de (Diferencia entre termopares) 30°C.

Tabla 17 Resultados obtenidos de los ciclos de esterilización/despirogenización

	1er. CICLO		2o. CICLO		3er. CICLO		PROMEDIO	
	Z= 21	Z= 46.4	Z= 21	Z= 46.4	Z= 21	Z= 46.4	Z= 21	Z= 46.4
F_H acumulado	6812.900	341.430	4822.400	264.630	5416.300	337.030	5683.867	314.363
F_H mínimo alcanzado	6808.700	337.960	4821.500	263.190	5413.800	334.810	5681.333	311.987

Para efectos de realizar el reporte de los resultados se hace la consideración de tomar los valores por minuto así como los valores promedio y con ello realizar los cálculos posteriores.

Los datos presentados en la tabla 15 se registraron cada medio minuto. Por lo tanto los valores para F_H acumulado con $Z = 21$ y $Z = 46.4$ prácticamente tienen un valor de la mitad del registrado en la tabla 15 y considerando la especificación de alcanzar un $F_H = 30$ minutos.

El equipo entrega 94.689 veces el tiempo esperado con $Z=21$

El equipo entrega 5.200 veces el tiempo esperado con $Z=46.4$

Dosis letales para el indicador microbiológico utilizado (de nueva cuenta la misma consideración anterior, solo que para realizar estos cálculos se toma en consideración los valores de F_H mínimo alcanzado para $Z = 21$ y $Z = 46.4$).

El F_H mínimo requerido a 250°C para la reducción de 3 ciclos logarítmicos con $Z = 21$ es de:

$$F_{H21} = 30 \text{ minutos}$$

Por lo tanto el ciclo en el equipo utilizado entrega: 94.731 veces el tiempo requerido

El F_H mínimo requerido a 250°C para la reducción de 3 ciclos logarítmicos con $Z = 46.4$ es de:

$$F_{H46.4} = 30 \text{ minutos}$$

Por lo tanto el ciclo en el equipo utilizado entrega: 5.239 veces el tiempo requerido.

El cálculo de la eficiencia está dado por la F máxima para su ciclo cuya especificación es de: F_H mínimo a 250°C durante 30.0 minutos. Bajo estas especificaciones el equipo entrega 94.731 veces la letalidad de especificación para un $Z=21^\circ\text{C}$, y de 5.239 veces la letalidad de especificación para un $Z=46.4^\circ\text{C}$.

El estudio realizado de depirogenización demuestra que el equipo es eficiente para reducir la concentración de Endotoxina de *E. coli* en por lo menos tres ciclos logarítmicos.

Esto se demostró inoculando 10 muestras de ampolleta con 1000 unidades de endotoxina de referencia en cada ampolleta, las cuales fueron distribuidas en el túnel y sometidas a los ciclos de depirogenización.

Una muestra no fue tratada térmicamente para permanecer como control.

Al finalizar el ciclo se determinó la cantidad de endotoxina presente, mediante la adición de agua libre de pirógenos para la recuperación de endotoxina y la adición de Lisado de Amebocito de *Limulus Poliphemus* (según U.S.P. XXIII) encontrándose los resultados dados en la siguiente tabla:

Tabla 18 Resultados de la prueba de LAL para los ciclos con ampolleta

RESULTADOS DE LA PRUEBA DE LAL			
TERMOPAR	CICLO 1	CICLO 2	CICLO 3
1	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
2	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
3	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
4	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
5	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
6	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
7	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
8	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
9	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
10	NEGATIVO	NEGATIVO	NEGATIVO
CONTROL	POSITIVO	POSITIVO	POSITIVO

Reactivo de Lisado de Amebocito *Limulus Poliphemus*.

Sensibilidad: 0.250 EU/mL.

U.S. Standard: EC-7.

8. ANÁLISIS DE RESULTADOS

De los puntos considerados dentro de la documentación relacionada con la calificación de la instalación fue revisada cumpliendo con los criterios de aceptación establecidos en los protocolos de calificación.

La documentación como los diagramas eléctricos, lista de especificaciones, manuales de instalación y operación se cotejaron contra lo instalado físicamente en el túnel (tabla 12). Durante la inspección realizada se encontraron algunas discrepancias mismas que fueron registradas en los reportes de desviaciones quedando corregidas antes de concluir la calificación de instalación.

De las listas de partes de recambio, de filtros y de lubricantes solicitadas, se verificó la concordancia con los números de parte del fabricante, las especificaciones del fabricante así como la existencia de al menos un juego de estas piezas en el almacén de refacciones, como también se manejaran los lubricantes recomendados por el fabricante, con lo anterior se asegura que cuando se presente el deterioro de alguna pieza de recambio durante la operación normal de túnel, esta pueda ser sustituida por la pieza indicada por el fabricante sin que esto llegue a alterar el estado de calificación que ha quedado establecido (tabla 12) .

Un punto importante que hay que considerar dentro de la calificación de instalación de un equipo es asegurarse que cada uno de los instrumentos instalados en el equipo a calificar tenga la exactitud y alcance requerido para realizar las mediciones de los parámetros de funcionamiento del equipo, de igual manera es de suma importancia que estos estén identificados, calibrados, que estén incluidos dentro de un programa de calibración y que a su vez cuenten con sus correspondientes reportes de calibración, con ello podemos garantizar que las mediciones de las magnitudes que rigen el funcionamiento de nuestro equipo sean las correctas y podamos mantener la reproducibilidad del proceso lote a lote. Tomando como base lo anterior se realizó la inspección de los instrumentos instalados en el equipo mediante la cual se concluye que los instrumentos instalados (7.1.1 inciso D y tabla 12) cuentan con lo descrito en este punto (la documentación de referida en este punto se encuentra ubicada en el departamento de Validación).

En el marco de las regulaciones sanitarias las instancias gubernamentales han establecido que 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. Para cubrir este rubro fue necesario la elaboración de los procedimientos de operación, limpieza y mantenimiento así como la elaboración de un programa de mantenimiento para este

equipo, debido a que no se contaba con ellos, estos documentos fueron elaborados por mantenimiento y producción. Actualmente están bajo el resguardo del departamento de documentación y para su aplicación de estos PNO's los departamentos involucrados únicamente poseen una copia controlada, además de verificar que se realizarán las actividades conforme a lo descrito en cada uno de los procedimientos, generando los registros y documentación que en ellos se establecen.

Dentro de un sistema o equipo y de no menos importancia que los otros componentes son los sistemas de seguridad que dependiendo de su buen funcionamiento nos permite mantener el control del proceso además de proteger y prolongar el buen funcionamiento del equipo. En el caso particular del túnel las alarmas y sistemas de seguridad instaladas, cumplen con lo especificado por el fabricante y el protocolo de calificación. Por otro lado cabe mencionar que los sistemas de control del equipo fueron instalados de acuerdo con el diseño que estableció el fabricante, contando con el espacio suficiente para su correcta operación, limpieza y mantenimiento.

En tanto la documentación fue verificada contra lo instalado, de igual manera todos los componentes con que cuenta el túnel fueron instalados por personal calificado y conforme lo especifica el fabricante, verificando que estos mantuvieran su integridad permitiendo de esta manera disminuir el riesgo de un mal funcionamiento y poder asegurar el cierre de la calificación de instalación para posteriormente dar el inicio de la calificación operacional.

Una vez concluida la calificación de instalación dentro del desarrollo del presente trabajo de validación, se inicio la siguiente etapa denominada calificación de la operación.

La calificación operacional de túnel se llevó mediante una serie de pruebas enfocadas a verificar el funcionamiento del equipo. Todos los controles de mando, instrumentos de medición así como los testigos luminosos instalados en el túnel funcionan acorde a lo indicado por el fabricante. Dichas pruebas cumplieron satisfactoriamente las especificaciones de diseño. Por otra parte en el caso particular del túnel las pruebas realizadas a las alarmas y sistemas de seguridad de este mostraron su funcionalidad, permitiendo que el equipo funcione dentro de los parámetros establecidos minimizando con esto el riesgo de que se presente circunstancias que pongan en riesgo la calidad del producto y la integridad del personal operativo del equipo.

Otra prueba importante dentro del trabajo de validación fue sin duda alguna la determinación de las velocidades de aire durante el desarrollo de los ciclos de distribución de calor y el diseño de los ciclos de despirogenización en donde se notó que las velocidades del aire manejadas eran demasiado bajas lo cual impedía que la temperatura en la zona circundante a la banda transportadora del túnel

fuese poco homogénea provocando que algunos termopares no alcanzarán la temperatura aun cuando estos se encontraban aproximadamente a la mitad de la zona de calentamiento y en la tercera parte de esta zona era cuando se alcanzaba la temperatura (esto se puede apreciar gráficamente en las figuras 19 y 20) por lo cual se decidió aumentar las velocidades de aire de la primera zona de calentamiento, obteniendo con ello que la temperatura fuese mayor y mas homogénea en la parte media de la primera zona, sin embargo, se descompensó la segunda zona de calentamiento (lo anterior se visualiza gráficamente en las figuras 21, 22 y 23) teniendo que realizar un nuevo ajuste en ambas zonas de calentamiento, logrando que no sólo se alcanzara la temperatura en la zona cercana a la banda sino también tuviese mayor homogeneidad en casi todo el ciclo (ver figura 24).

Si bien es cierto que los valores de las velocidades de aire quedaron fuera de la especificación (tabla 15) según lo indicado por la norma de Buenas Prácticas de Fabricación para Establecimientos de la Industria Químico Farmacéutica Dedicados a la Fabricación de Medicamentos (NOM 059) en la que se indica en primer instancia que el valor debe ser de 27 m/min. \pm 20 %, sin embargo en ella también se indica en líneas posteriores que puede ser MAYOR CUANDO LAS CARACTERÍSTICAS DEL PRODUCTO, PROCESO O ÁREA, LO REQUIERA. Tomando como referencia lo anterior podemos considerar que las velocidades de aire manejadas son las requeridas para lograr los objetivos planteados sin quedar al margen de lo especificado por el marco regulatorio.

Como consecuencia de lo mencionado en el párrafo anterior, se esperaría que la cantidad de partículas se incrementara, sin embargo, al realizar el conteo de partículas se demostró que aun con las velocidades de aire elevadas se mantiene la calidad del aire dentro de los niveles de aceptación (tabla 16) marcados tanto por las normas nacionales como por las recomendaciones emitidas por organismos internacionales para áreas de clase 100 [área crítica aséptica (bajo flujo unidireccional)]. Garantizando con lo anteriormente descrito que se producirán ampollitas (para este caso en particular) libres de partículas.

Para redondear la calificación de la operación sólo hace falta puntualizar que en el estudio de distribución de calor una vez que se ajustaron los parámetros de operación del túnel se lograron obtener temperaturas homogéneas dentro de la zona de despirogenización puesto que el ΔT en esta zona es menor de $\pm 15^{\circ}\text{C}$ mientras que la temperatura fue superior a los 250°C demostrando con ello que el túnel cumple con las normas de esterilización/despirogenización emitidas para soluciones parenterales.

Las pruebas realizadas durante la calificación del desempeño demostraron que cada ciclo es confiable, efectivo y reproducible tanto en el aspecto térmico (figuras 25,26, 27 y tabla 17) como el aspecto microbiológico (tabla 18).

Analizando los resultados termodinámicos de los tres ciclos que conformaron la última etapa de validación del proceso se observa que los datos mantuvieron un comportamiento muy similar.

Verificando los datos del inicio de cada ciclo se puede ver que existe un pequeño desfase de la temperatura registrada por el termopar 1 con respecto del resto de los termopares sin embargo esto no es un factor de riesgo dado que a medida que avanzan los termopares y pasan de la zona de acondicionamiento a la zona de despirogenización la temperatura registrada por todos los termopares se va incrementando hasta llegar un momento que la temperatura se eleva tan rápidamente que de un registro a otro existe una diferencia de más de cien grados, y que al continuar avanzando los termopares, comienzan a estabilizar su temperatura al llegar a la temperatura nominal manejada, observándose que el ΔT llega a ser muy pequeño (en algunos casos llega a ser del orden de 2.1 °C. Datos mostrados en las figuras 25, 26 y 27) cuando los termopares se encuentran aproximadamente en el centro de la zona de despirogenización, y a medida que estos continúan su transcurso dentro de la cámara del túnel e ingresan hacia la zona de refrigeración la temperatura comienza a descender hasta alcanzar aproximadamente los 25°C. Esto permite que los recipientes sean dosificados sin que exista riesgo de daño para el producto causado por la temperatura del contenedor.

Aun cuando la temperatura de despirogenización así como la diferencia de temperatura se ha logrado alcanzar, es necesario demostrar en términos termodinámicos la eficiencia del proceso. Tal demostración se realiza mediante el cálculo de la eficiencia dado por la F máxima para el ciclo cuya especificación es de F_H mínimo a 250°C durante 30 min. En otras palabras debemos obtener un tiempo equivalente mínimo de 30 min. Bajo esta especificación el equipo entrega 94.731 veces el tiempo equivalente requerido para un valor de $Z = 21$ y de 5.239 veces el tiempo equivalente requerido para un valor de $Z = 46.4$

Por otro lado, el estudio de reto microbiológico realizado en el túnel demuestra que el equipo es eficiente para reducir la concentración de endotoxina de *E. coli* en por lo menos tres ciclos logarítmicos. Lo anterior se demostró una vez que las diez ampollas con endotoxina fueron distribuidas en túnel de acuerdo a lo indicado en el protocolo y sometidas a los ciclos de

despirogenización obteniendo resultados negativos al realizarse la prueba de LAL cumpliendo de esta manera con lo establecido en el protocolo de calificación (tabla 18).

Conjuntando todo lo descrito en este documento se establece que el proceso de despirogenización queda validado bajo las condiciones aquí marcadas.

9. CONCLUSIONES

Con los parámetros de operación críticos controlados como son la temperatura, tiempo de exposición, velocidad del aire el túnel proporciona de manera consistente contenedores con la calidad requerida para la fabricación de soluciones parenterales. Es importante mencionar que un punto fundamental dentro de este tipo de procesos es la velocidad de la banda, ya que de esta depende el tiempo de exposición de los materiales a esterilizar/despirogenizar.

Con los ajustes realizados al sistema, el proceso de despirogenización muestra resultados satisfactorios para los tiempos de letalidad.

El F_H es una función directa de la temperatura y del tiempo de exposición en proceso de despirogenización.

En el túnel es consistente la homogeneidad en la distribución de calor, no existiendo puntos donde se registren temperaturas menores a 250°C.

La temperatura mínima, máxima y promedio dentro del túnel cumple con la especificación de no menos de 250 °C.

El estudio de biocarga en todos los casos es negativo, según lo indicado en el reporte microbiológico, lo que indica que el túnel es capaz de reducir la concentración de la endotoxina en por lo menos tres logaritmos.

La calibración de termopares antes y después del trabajo de validación del proceso cumple con la especificación, la diferencia de temperaturas registradas por los termopares y la registrada por el patrón de referencia no es mayor de $\pm 0.5^\circ\text{C}$, como se establece en el protocolo de validación

Los resultados demuestran que el túnel para despirogenización bajo estudio y las condiciones descritas en este documento opera cumpliendo con las normas de despirogenización para soluciones parenterales.

Por lo tanto, los estudios descritos y los resultados obtenidos que en este documento se presentan demuestran que el proceso de despirogenización para ampollita de 2 mL en el túnel del área de inyectables de los Laboratorios Fustery S.A. de C.V. es confiable, efectivo y reproducible.

Resumiendo lo anterior se puede afirmar que, el proceso antes mencionado queda validado bajo las condiciones descritas en el presente documento.

10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Herman José *Farmacotecnia teórica y práctica*. Tomo V, Compañía Editorial Continental, México 1981. pp. 1380-1400.
2. *Technical Report No 7 Depyrogenation*. Parenteral Drugs Association. 1985.
3. *Technical Report No 3 Validation of Dry Heat Process Used for Sterilization & Depyrogenization*. Parenteral Drugs Association. 1981.
4. *Boletín Técnico Grupo MALLINCKRODT Inc. Instructive Pyrogen (P.O. Box 5840) St Louis Missouri U.S.A. 1982*.
5. *Boletín Técnico Grupo MALLINCKRODT Inc. Instructive Pyrogen (P.O. Box 5840) St Louis Missouri U.S.A. 1983*.
6. European Workshop on detection and Quantification of Pyrogen; *Pharmaeuropa The European Pharmacopoeia Forum*; Number especial Vol. 1 November, 1989 pp. 1-17
7. Bernard R., *Validation of Dry Heat Tunnels and Ovens Pharm. Eng.* 1988, **8** [2], 18 - 23.
8. Carleton F J., Agalloco J P. *Validation of Pharmaceutical Processes*. 20ª Ed Marcer Decker Inc. New York, 1999 pp. 93 – 123, 381- 409, 483 - 525.
9. Moran H. J., Sapporo H. N., *Fundamentos de Termodinámica Teórica*, 2ª Ed, Primer Tomo Editorial Reverte S.A. España 1994 pp. 1- 78.
10. Martínez Fuentes V, Valencia Rodríguez J. *Termopares Publicación Técnica CNM-MET-PT-007*, 4a Ed., Centro Nacional de Metrología, Querétaro, 1997 pp. 3-44.
11. ASTM committee on Standards *Standard Test Method for Calibration of Thermocouples by Comparison Techniques E 220*, Nov.1996, 97-108.
12. Alvarado J J., Bustamante Y., Carreón J., Couriel B. D., Jiménez R., Ochoa M. E., Oliver H., *Validación de Procesos Farmacéuticos*. Asociación Farmacéutica Mexicana. México, 1982 pp.1-3.
13. Graham C Cole *Pharmaceutical Production Facilities: Design and Applications* Ellis Horwood Limited. Chichester; West Sussex England 1993 pp. 179 – 191, 237 – 266.
14. Gold D H. *Validation: Why, When, How Much? J. Pharm. Sci. & Tech.* 1996, **50** [1], 153-161.
15. Rémington J P. *Farmacía* Vol. I 17ª Ed. Médica Panamericana Buenos Aires Argentina, capítulo 8, 1987.
16. Comité de elaboración de Guías Oficiales de Validación de la Dirección General de Insumos para la Salud *Guías Generales de Validación*. 5-16
17. Gillian Chaloner-Larsson, Roger Anderson, Anik Egan, Manoel Antonio da Fonseca Costa Filho, Jorge F. Gómez Herrera, *A WHO Guide to Good Manufacturing Practice (GMP) Requirements Part 2: Validation* World Health Organization Geneva. Jan.1997, 5-8, 11-12.

-
18. Pharmaceutical Inspection Convention *Recommendations on Validation Master Plan, Installation and Operational Qualification, Non-Sterile Process Validation, Cleaning Validation*, August 2001, pp.8
 19. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration, *Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice*, August 2003, pp. 8-39
 20. Jenkins W. A., Osborn K. R., *Packing drugs and Pharmaceuticals* Technomic, Publishing Co. Inc. Pennsylvania, 1993, pp. 99-102.
 21. *Technical Report No 5 Sterile Pharmaceutical Packaging: Compatibility and Stability*. Parenteral Drugs Association. 1984.
 22. López O. A *Model Equipment Installation Qualification Protocol*, *Journal of Validation Technology*. 1995.
 23. Institute of Environmental Sciences and Technology *Unidirectional Flow Clean-Air Devices Contamination Control Division Recommended Practice 002.2* Oct. 1999, 1-27.
 24. International Organization for Standardization *Cleanrooms and Associated Controlled Environments Part 1 Classification of Air Cleanliness 1999-05-01 and Part 2 Specifications for Testing and Monitoring to Prove Continued Compliance With ISO 14644-1 2000-09-15*.
 25. 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 pp. 14-15
 26. ISO/TC209: *Building a World Standard Journal of the IEST* January/February 1999, 1-15.
 27. Federal Standard 209 E *Clean Room and Work Station Requirements Controlled Environment* The Interpharm Press, Inc. September 11, 1999, 1-5.
 28. King J. H. *Precautions & Recommendations for Thermocouple Wiring in Validation J. of Validation Technology* 1 [4], 1995 51-55.
 29. United States Pharmacopoeia U.S.P. 23 Monograph <1231>
 30. Graves Michael J., Olson Wayne P. *Sterile Pharmaceutical Manufacturing-Applications for the 1990's Vol. 1 y 2* Interpharm Press Inc. 1991 p. 200 – 223.
 31. Christensen D., Markinson H., *Validation of Emerging Technology Sterilizers, J. of Validation Technology*. 1995, 2 [4], 318-323.
 32. Pharmaceutical inspection Convention *Guide to good Manufacturing practice for medicinal Products* Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme. Jan. 2002, 119-124.
 33. Institute of Validation Technology. *The Validation Dictionary*. 2001, 5-6, 17-18, 34, 43-49, 62.