

24
27



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

**ESTUDIO DE VALIDACION DEL PROCESO
DE ESTERILIZACION POR AUTOCLAVE
PARA SOLUCIONES INYECTABLES**

T E S I S
QUE PARA OBTENER EL TITULO DE
QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO
P R E S E N T A
MA. DE LOURDES ISABEL DOMINGUEZ SUAREZ

MEXICO, D. F.

1986



Universidad Nacional
Autónoma de México



UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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

I N D I C E

I. PROLOGO

II. INTRODUCCION

III. GENERALIDADES

1. Origen de la Validación
2. Definición
3. Etapas de la Validación
4. Interrelación Buenas Prácticas de Manufactura-Validación.

IV. PARTE EXPERIMENTAL

1. Información técnica de soporte
Manual general de fabricación. Características generales del inyectable en estudio. Parámetros claves del producto. Relación de las características del inyectable en el proceso de esterilización. Criterio de aceptación. Descripción general del autoclave en estudio. Materiales de construcción del autoclave. Localización del autoclave.
2. Metodología y consideraciones para la validación
Fase I Validación del proceso de esterilización utilizando tapones de hule. Fase II Validación del proceso de esterilización utilizando frascos viales.

Fase III Validación del proceso de esterilización utilizando ampolletas.

3. Trabajo Experimental

Fase I Validación del proceso de esterilización utilizando tapones de hule. Fase II Validación del proceso de esterilización utilizando frascos viales. Fase III Validación del proceso de esterilización utilizando ampolletas.

4. Resultados

Resultados experimentales. Condiciones de trabajo generadas por los resultados. Registro de la Validación.

V. DISCUSION

VI. CONCLUSIONES

VII. APENDICE

VIII. BIBLIOGRAFIA

P R O L O G O

La presente tesis, esta encaminada a orientar a las personas interesadas en el tema de Validación de proceso, sobre su aplicación e implementación en la Industria Farmacéutica, concepto que trae como consecuencia mejores productos con mayor grado de aseguramiento de la calidad, reducción en los costos y lo que es más importante: un mejor servicio al consumidor.

En el desarrollo de este tema se tratará de mostrar la magnitud del concepto, así como las áreas que abarca. Principalmente se tratará la Esterilización terminal de soluciones inyectables en autoclave, forma farmacéutica que merece atención especial en su elaboración por las características propias que posee y donde algunos autores han propuesto, con justificación, que con una adecuada validación del proceso, la prueba de Esterilidad adiciona pocos datos a la seguridad, de que el producto en cuestión sea estéril, con la consiguiente disminución de riesgo para el paciente.

La tesis se presenta en 5 partes, siguiendo el orden que a continuación se presenta: La primera parte consiste en una breve introducción y de ella se deriva el objetivo mismo del trabajo. La segunda parte tiene como finalidad situar al interesado en el campo que se abordará, presentando el origen de la validación, el concepto mismo, y finalmente una breve interrelación entre las Buenas Prácticas de Manufactura (BMP) y el término de validación. En la tercera parte se presentan los requisitos necesarios para iniciar la Validación del proceso, siguiendo con la metodología del trabajo experimental realizado, señalando con

sideraciones particulares de éste, y finalizando con los resultados obtenidos.

La cuarta parte presenta la discusión de los resultados y finalmente en la quinta parte se exponen las conclusiones a las que se llegaron, después de realizar este trabajo.

Al término de estos capítulos se incluye un apéndice en el cual se presentan algunos aspectos teóricos que soportan el estudio de validación del proceso de esterilización en autoclave de soluciones parenterales, para su implementación y aplicación.

I N T R O D U C C I O N

La Industria Química Farmacéutica persigue varios objetivos; el principal de ellos es obtener medicamentos que reúnan las características necesarias para el uso para el cual fueron diseñados. Esto requiere un trabajo continuo, para poder día a día proporcionar medicamentos que respalden la confianza que se ha depositado en ellos.

Hoy en día no basta seguir las Buenas Prácticas de Manufactura, es necesario seguir trabajando y mejorar los procedimientos con objeto de optimizar la elaboración de productos farmacéuticos.

Es en 1976 cuando en la Industria Farmacéutica nace el concepto de Validación de proceso, aún cuando los primeros reglamentos publicados por la FDA (Food and Drug Administration) en 1963, sin mencionar el término " Validación de proceso ", llevaban implícito el mismo; dicho término, no se opone por lo tanto a las Buenas Prácticas, sino que en ellas sienta sus bases, y su avance no se ha hecho esperar, siendo un concepto sólido, definido, no muy distante de llegar a ser cimiento de una nueva técnica que asegure la calidad de los productos farmacéuticos por medio de consideraciones apropiadas de diseño, las cuales no están limitadas al diseño del proceso o control del proceso, sino que involucran la operación completa de la firma encargada de fabricar y vender el producto.

Es debido a la Validación de procesos, que surgen nuevos senderos en el Desarrollo Farmacéutico que culminarán con la obtención de productos de calidad, seguros y reproducibles.

Objetivo

Elaborar un procedimiento confiable para la etapa de esterilización terminal de un producto inyectable en autoclave, mediante una secuencia específica de trabajo (Estudio de validación).

GENERALIDADES

El más grande anhelo del hombre ha sido y es el de superarse y crecer cada vez más, ésto se ve reflejado a lo largo de su historia, ya sea que el mismo haya propiciado su avance ó bien debido a un evento casual, adecuadamente aprovechado. Hoy en día nos encontramos con acontecimientos que contribuyen al avance del hombre abarcando muy diversas áreas, sin que la Industria Farmacéutica sea la excepción y así en ella se observan continuos cambios que repercuten en el avance de la misma.

Tal es el caso de la Validación de procesos, la cual debe su origen a un evento relativamente casual, que una vez que el hombre comprendió y aplicó, dió lugar a la creación de una nueva técnica.

Fué en E.U.A. en el año de 1976, cuando grupos de inspectores de la FDA (Food and Drug Administration), quienes durante la realización de auditorías cotidianas a los diferentes Laboratorios que conforman la Industria Farmacéutica de ese país, detectaban la existencia de algún problema en particular y daban alguna sugerencia de acuerdo a la experiencia obtenida. En varias ocasiones esa sugerencia se componía de un pequeño cambio en alguna etapa del proceso, un muestreo más estricto, etc., llegando a sugerir como verificación del cambio un desafío para comprobar su efectividad. Posteriormente dichos inspectores observaron que sin darse cuenta habían elaborado una nueva técnica que surgió del interés por solucionar problemas rutinarios presentes, pero que en su aplicación tenía además la ventaja de crear calidad dentro de un producto farmacéutico. Después vino

la etapa de formalizar esta técnica, y en 1980 fué aprobada como ley por las autoridades correspondientes.

En nuestros días es común hablar de Validación de proceso y estamos conscientes de que no está muy distante de formar parte de la historia de la Industria Farmacéutica.

Definición

Existen muchas definiciones sobre la Validación, sin embargo una de las más usadas es la siguiente: " El proceso es validado cuando el procesador tiene suficiente experiencia y datos para asegurarse a sí mismo y a las autoridades correspondientes, que su proceso es altamente reproducible y que, con el apropiado Control de Calidad, hará consistentemente lo que se supone se debe hacer ". 13

Etapas de la Validación

La FDA (Food and Drug Administration) ha reconocido como oficiales cuatro etapas en el Proceso de validación. Estas etapas pueden diferir en el contenido de cada una, dependiendo del proceso a validar, pero en esencia comprende: calificación, desafío, monitoreo, recalificación.

Calificación.- Es la ejecución de pruebas para determinar si un elemento posee los atributos que se ha informado que posee; esto puede parecer ambiguo, pero hay que recordar que el

equipo de la Industria Farmacéutica ha sido obtenido de diferentes industrias, y es en esta etapa en donde se determina si reúnen las características necesarias, las cuales posteriormente serán validadas.

Desafío.- Es la realización de pruebas para determinar si un elemento puede cumplir con su función, para establecer los límites de capacidad, ó las condiciones en que el elemento empieza a fallar. Este es un concepto especialmente importante en el proceso de validación, ya que se establecen especificaciones muy consistentes: conocer cuando el elemento empieza a trabajar para nuestro objetivo, así como la condición ó condiciones en las cuales empieza a fallar dicho elemento.

Monitoreo.- Registrar las condiciones de los elementos críticos durante el empleo de ese elemento en particular.

Recalificación.- Es la ejecución de pruebas a intervalos determinados para confirmar la capacidad de un elemento para cumplir su función. Es decir, nada queda permanente, así que necesitará ser recalificado por los elementos que se requieren en el proceso.

El método de validación no debería confinarse solo a la calificación de los procesos, ya que cada elemento que interviene en el producto ó las especificaciones del mismo, debería sujetarse al programa de calificación - desafío - monitoreo - re_

calificación. Los elementos que intervienen en el proceso de validación se asocian a las Cuatro Emes (4 M) : Maquinaria Material, Métodos y Mano de obra.

Interrelación entre las Buenas Prácticas de Manufactura y Validación

Siendo las Buenas Prácticas de Manufactura (BPM) las bases sobre las que se asienta la validación de procesos, es interesante presentar la relación existente entre ellas. Las BPM establecen procedimientos estadísticamente adecuados, esto es, experimentos apropiadamente diseñados con un número de réplicas para establecer niveles de confianza. Así mismo hacen resaltar en varias de sus secciones la importancia de validar procedimientos y procesos; entre otros se mencionan:

" Especificaciones válidas en proceso para características tales como claridad, pH, mezclado adecuado que asegure la homogeneidad de la solución, deben ser consistentes con las especificaciones finales del producto terminado y deberán derivarse de promedios aceptables del proceso, así como de variaciones del mismo, donde ésto sea posible, determinados por la aplicación de procedimientos estadísticos adecuados cuando ésto sea apropiado. El examen y análisis de las muestras asegurará que el producto en proceso y/ó terminado cumpla con las especificaciones ".^{4a}

" Deben tenerse procedimientos escritos para producción y control del proceso, diseñados para asegurar que los productos farmacéuticos tengan la identidad, potencia, calidad y pureza especificada. Estos procedimientos escritos, incluyendo cualquier cambio deben ser preparados, revisados y aprobados por la organización autorizada, y revisados y aprobados por la unidad de Control de Calidad; deben ser seguidos para la ejecución de las diversas y variadas funciones de producción y control de proceso, y deben quedar documentadas al momento de su desarrollo. Cualquier desviación de los procedimientos escritos deberán registrarse y justificarse ".^{4b}

En estas citas se menciona indirectamente la importancia de la validación y además se puede observar la participación de un departamento clave dentro de cualquier organización como lo es el de Control de Calidad, especificándose que los cambios deben ser revisado y aprobados por el mismo, con lo cual se ejerce una acción de vigilancia para asegurar que se cumplan dichas prácticas. Así mismo se nota la importancia durante el Desarrollo de un producto, de determinar un promedio aceptable de proceso y más importante aún de conocer la variabilidad del proceso. De tal manera que un buen diseño de proceso y un adecuado seguimiento del mismo durante la manufactura da lugar al producto de la calidad esperada.

Los procedimientos y especificaciones que involucra la calidad de un producto, presentan variantes muy amplias en la

Industria Farmacéutica, en cuanto a lo que constituye la Validación del proceso para el propósito de satisfacer a las autoridades correspondientes.

La diversidad de instalaciones en la Industria, crea un formidable desafío para presentar un solo sistema de cuantificación que fuera aceptable para cada proceso. El gran número de procesos que están involucrados en la manufactura de procedimientos farmacéuticos se multiplican aún más, y si las modificaciones que son inevitables para favorecer un proceso específico se incluyen por una exigencia en particular, el número de procesos aumenta considerablemente.

Después de revisar estos conceptos, se intuye que en realidad, lo que se ha estado haciendo es validar el proceso para satisfacernos a nosotros mismos, y entonces después de efectuar un cambio en el monitoreo de la producción, aseguramos de que se está operando dentro de los nuevos parámetros establecidos. La determinación de las variables del proceso y la validación de los cambios, es una extensión posterior de la premisa: " Crear calidad dentro de un producto ".

P A R T E E X P E R I M E N T A L

Información técnica de soporte

Manual general de fabricación

El manual general de fabricación se presenta de una manera abreviada, ya que solamente se pretende dar la ubicación del proceso de esterilización en la manufactura del producto. La secuencia de fabricación es la siguiente:

Pesar el vehículo, en un tanque de acero inoxidable. Con agitación constante, agregar el principio activo. Adicionar la solución amortiguadora. Determinar el pH de la solución y ajustarlo en caso de ser necesario. Filtrar la solución. Pasar la muestra al departamento de Control de Calidad. Llenar las ampollitas, previamente tratadas para la eliminación de microorganismos y pirógenos, una vez aprobado el líquido a granel por el departamento de Control de Calidad. Esterilizar las ampollitas.

Siendo el tema de este trabajo la validación del proceso de esterilización por autoclave, se debe centrar la atención en el último punto " Esterilizar las ampollitas ", debiéndose presentar el instructivo del manejo del autoclave, para tener una idea del funcionamiento del mismo:

El autoclave con el que se trabajó fue un Esterilizador rectangular AMSCO, modelo UME 3660 RPD y su manejo es el siguiente: Cerrar la puerta y bajar la palanca, apretar la llave de seguridad. Mover la palanca del regulador de vapor a la posición de parado, abrir la llave de vapor, esperar a que la pre

gión del manómetro de la chaqueta sea de 20 psig. Llevar la palanca a la posición de esterilizado hasta que el manómetro de la cámara marque 20 psig., y el indicador de temperatura esté en 120C, poner el interruptor ("switch") del graficador en la posición de encendido (" ON "). Esperar 20 min., poner el interruptor en apagado (" OFF "), cerrar la llave del vapor en escape lento 5 minutos y después en escape rápido para descargar la cámara, en cuanto el manómetro de la cámara marque cero, se procede a abrir la puerta del autoclave y sacar las ampollitas.

Características generales del inyectable en estudio

Ampollitas de vidrio neutro, conteniendo un líquido claro libre de partículas extrañas, estéril, libre de pirógenos, pH definido; y una concentración del principio activo (Cimetidina base) de ciento cincuenta miligramos por mililitro, siendo la vía de administración del producto intravenosa ó intramuscular.

Las pruebas a que se somete el producto para asegurar su apego a las especificaciones, se dividen en físicas, químicas y biológicas.

Por lo que respecta a las pruebas físicas se tiene:

- Inspección física. Que consiste en observar que la solución sea incolora, y exenta de partículas extrañas visibles, contra un campo claro y oscuro.

- Volumen contenido. Siguiendo el método establecido en la FNEUM IV Ed., pp 181.

En cuanto al análisis químico se tiene:

- Valoración del principio activo. Que se analiza de acuerdo al método específico por Cromatografía líquida de alta resolución y por espectrofotometría de ultravioleta. La variación permitida va de 95 a 105%.

- pH. Se toma el pH de la solución a 20°C, utilizando un potenciómetro adecuado.

- Otras impurezas. Se determinan por el método de cromatografía de capa fina y por espectrofotometría infrarroja, comparándolo contra un estándar de referencia.

Respecto al análisis biológico se tiene:

- Esterilidad. Siguiendo el método establecido en la FNEUM IV Edición.

- Pirógenos. Siguiendo el método establecido en la FNEUM IV Edición.

- Seguridad. Siguiendo el método establecido en la FNEUM IV Edición.

Parámetros claves del producto. Relación de las características del inyectable con el proceso de esterilización.

Es importante que antes de iniciar el Estudio de validación de un proceso, se determine qué características del producto pueden verse afectadas durante su elaboración, con el fin de controlar muy de cerca estas características. En el caso de un inyectable la misma definición de la forma farmacéutica nos indica las características primordiales que debe poseer y por consiguiente las que hay que conservar. Para fines de este traba-

jo se presenta brevemente la etapa de esterilización del producto analizando los factores que intervienen en el proceso de esterilización y las características primordiales del inyectable que hay que conservar. Esta relación se presenta en la Tabla No. 1 pág. 15.

Criterio de aceptación

Establecida la relación existente entre las características del inyectable y el proceso de esterilización, resta únicamente establecer el criterio de aceptación, con el cual se va a trabajar durante el estudio de validación. Recordando que dicho criterio de aceptación, se establece en la etapa de Desarrollo del Medicamento, basándose en las especificaciones oficiales, ya que durante el estudio de validación debe determinarse si las condiciones no van a modificar lo establecido inicialmente, y por lo tanto continuar elaborando medicamentos con características para los cuales fueron diseñados.

Descripción general del autoclave en estudio

Esterilizador rectangular AMSCO, modelo UME 3660 RPD, número de serie M 811018534, de 61 cm de ancho (24 pulgadas) por 91 cm de alto (36 pulgadas) por 151 cm de fondo (60 pulgadas). De vapor directo para empotrarse en una pared, doble puerta de seguridad de presión de vapor con empaque de hule silicón en ellas y palanca de ajuste. Contiene doce termopares miniatura LN tipo T rango de -180 a 371 °C, de acero inoxidable 316 diámetro de 1/8 de pulgada y una pulgada de longitud.

CARACTERISTICAS DEL INYECTABLE	TEMPERATURA (*)	PRESION (*)	TIEMPO DE EXPO SICION (*)	OTROS FACTORES (+)
ESTERILIDAD	X	X	X	
ESTABILIDAD:				
FISICA	X	X	X	
QUIMICA	X	X	X	
pH	X	X	X	
TOXICIDAD	X	X	X	X
ISOTONICIDAD				X
PIROGENOS				X
PARTICULAS EXTRAÑAS	X	X	X	X

(*) Factores correspondientes al ciclo de esterilización.

(+) Calidad del vidrio, procesos adecuados de lavado y filtrado, etc.

TABLA N^o. 1

INFLUENCIA DE DIVERSOS FACTORES SOBRE LAS CARACTERISTICAS DEL INYEC-
TABLE - PROCESO DE ESTERILIZACION.

Materiales de construcción del autoclave

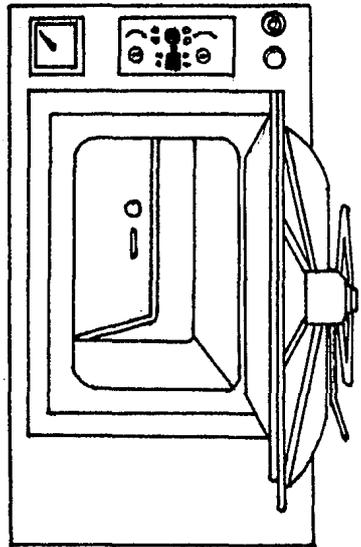
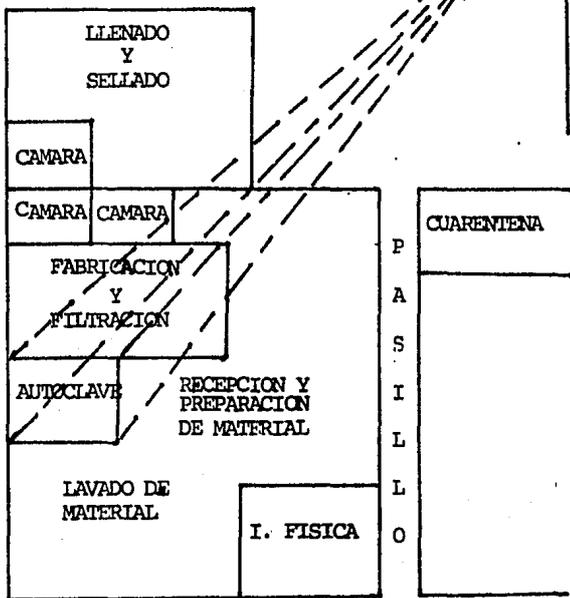
El autoclave así como los accesorios de ésta son de acero inoxidable. Cumpliendo con todos los detalles sanitarios de construcción como son: válvulas fáciles de remover para su adecuada limpieza, arillo de acero inoxidable soldado a la cámara para asegurar el blindaje contra la corrosión, control ciclométrico para asegurar que se realice el período correcto, secado de vacío para mantener el ambiente seco y fresco, válvulas de escape para acelerar el enfriamiento de líquidos en frascos, puertas de cierre a presión para asegurar absoluta protección.

Localización del autoclave

El esterilizador antes detallado se encuentra dentro del área de inyectables, el cual se haya dividido en área de Inspección física, área de lavado de material, área de recepción y preparación de materiales, área de cuarentena y área estéril (en donde se localizan las zonas de llenado y sellado, zona de fabricación y filtración). Para una mejor comprensión, ver la localización del área en el Plano No. 1, pág. 17.

Métodología y consideraciones para la validación

Siendo esta etapa la parte medular del trabajo a realizar y con el fin de que cualquier persona que desee adentrarse en la experimentación propia, tenga elementos para iniciarla, se presenta a continuación, en forma esquematizada, la secuencia de trabajo especificando los objetivos a lograr, así como las consi



Plano No. 1
LOCALIZACION DEL AUTOCLAVE.

deraciones al diseño del experimento, siendo necesario remarcar que el diseño es y debe ser siempre un trabajo conjunto de las áreas de Desarrollo, Producción, Control de Calidad y Mantenimiento, ya que se requiere la participación de las mismas con el fin de obtener resultados satisfactorios así como el de no interferir en las tareas diarias de cada departamento.

El estudio de validación del proceso de esterilización se realizó en tres etapas:

Etapa I. Validación del proceso de esterilización utilizando tapones de hule.

Etapa II. Validación del proceso de esterilización utilizando frascos viales.

Etapa III. Validación del proceso de esterilización utilizando ampollitas.

Etapa I. Validación del proceso de esterilización utilizando tapones de hule.

Cuando se instaló el autoclave con sus correspondientes termopares, a fin de conocer su funcionamiento, se realizaron varios ciclos de esterilización en cámara vacía, colocándose en cada ciclo los termopares en diferentes posiciones, de estos resultados se obtuvo:

El ajuste de los termopares de acuerdo a su calibración, la determinación de los puntos fríos y calientes del autoclave y la temperatura de distribución. (Para comprensión de estos términos, ver la sección de Apéndice, pág. 57). Este trabajo se realizó a lo largo del estudio de validación, partiendo por su-

puesto de los datos obtenidos de la cámara vacía; de la misma manera el estudio de temperatura de distribución de esta etapa se utilizó para las dos siguientes etapas.

Iniciando con esta etapa del estudio, los objetivos a lograr fueron:

Trabajar con tapones de hule, los cuales son de uso común en la Industria Farmacéutica.

Integrar al personal involucrado de manera activa, iniciándolos en un trabajo sencillo de rutina para ellos, como es el manejo del autoclave y material utilizado, como por ejemplo termómetros e indicadores biológicos y físicos. De esta manera se pretendió no alterar la secuencia lógica de trabajo.

Comprobar el funcionamiento del autoclave, con una distribución de tapones de hule en su cámara.

Es importante remarcar en este momento las razones que se tuvieron para trabajar con tapones de hule en esta etapa del estudio de validación: los tapones de hule son de fácil manipulación, presentan dificultad para su esterilización, ya que pierden su integridad a elevadas temperaturas, por lo que no se pueden esterilizar por medio de calor seco, debido a su porosidad almacenan fácilmente microorganismos, líquidos y gases, por lo que se elimina la esterilización por medio de gases y líquidos químicos, es un material que se tiene a disposición de costo más bajo que el del principio activo que contienen las ampollitas para iniciar el estudio de validación del proceso de esteriliza-

ción en autoclave.

Para poder cumplir con los objetivos antes señalados se realizaron: cuatro diferentes distribuciones de la carga de esterilización en el autoclave, que para fines de registro se denominaron DA-1, DA-2, DA-3, DA-4, respectivamente. De cada uno de los contenedores que forman las diferentes distribuciones de la carga en el autoclave, se varió el número de tapones de hule destinados para el análisis microbiológico, siendo éstos, 60 tapones de hule por contenedor, 50 tapones de hule por contenedor, 30 tapones de hule por contenedor, 25 tapones de hule por contenedor, y 10 tapones de hule por contenedor. El análisis de las muestras destinadas para el análisis microbiológico se hizo bajo el siguiente criterio:

- La muestra es representativa de la población.
- Para disminuir el tamaño de la muestra fue requisito necesario que los resultados obtenidos en los análisis y pruebas fueran satisfactorios, es decir, las diferentes distribuciones de la carga en el autoclave con un tamaño de muestra para el análisis microbiológico (DA-1 60, DA-2 60, DA-3 60, DA-4 60) se realizaron por triplicado, debiéndose obtener el 66.6% de los resultados satisfactorios, esto es, que los resultados tenían que repetirse dos de tres veces, no necesariamente seguidos, pero no existiendo un intervalo de más de un análisis entre cada uno, ya que de lo contrario no sería atribuible a las condiciones de trabajo sino posiblemente aleatorios. Cumpliendo esto, el tamaño de muestra podía disminuirse, de esta manera se estableció la re

producibilidad del método.

Esta primera etapa del estudio de validación utilizando tapones de hule se realizó en un tiempo aproximado de cuatro meses.

Una mejor comprensión del desarrollo de trabajo de esta etapa, se observa en la secuencia indicada en el Diagrama No. 1, pág. 22, y el programa de cargas de esterilización junto con los análisis microbiológicos se pueden apreciar en la Tabla No. 2, pág. 23.

Etapa II. Validación del proceso de esterilización utilizando frascos viales.

Los objetivos de esta etapa se pueden resumir de la siguiente manera:

Controlar el ciclo de esterilización con los siguientes elementos: termopares, indicadores físicos, tiras de esporas, así como microorganismos en suspensión.

En base a la Biovalidación, llevar a cabo la conducción del Desafío del ciclo, utilizando para ello diferentes tipos de microorganismos en concentraciones variables. (Para comprensión de estos términos, ver la sección de Apéndice, pág. 57).

Es importante remarcar en estos momentos las razones para la elección de frascos viales en el estudio de temperatura de penetración: los frascos viales son de fácil manipulación, la introducción del termopar es más sencilla que en una ampollita, el grosor del contenedor opone mayor resistencia al paso del calor

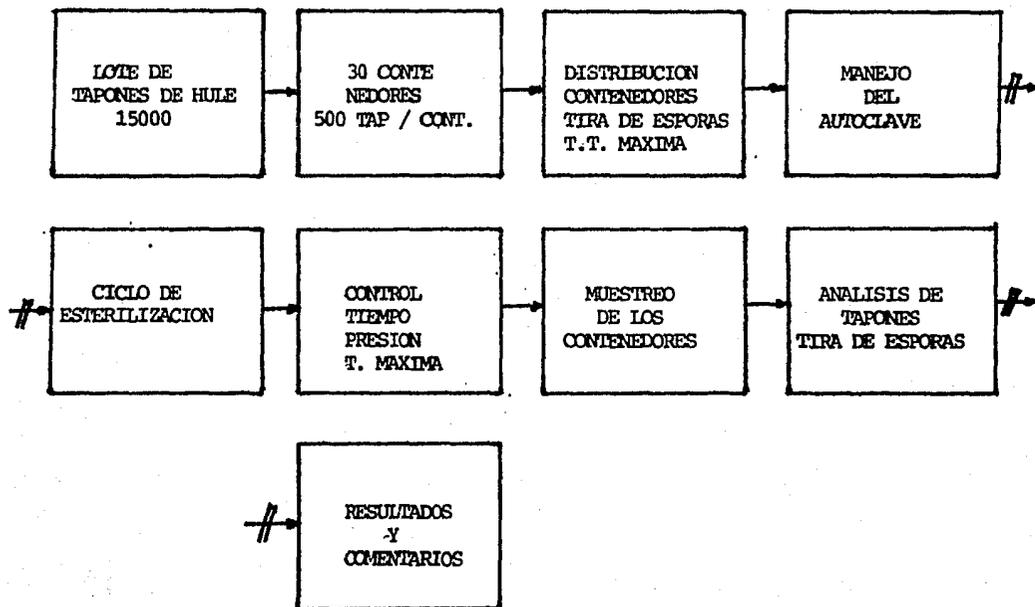


DIAGRAMA No. 1

SECUENCIA DE TRABAJO (PRIMERA ETAPA)

SEMANA	CICLO DE ESTERILIZACION		SIEMERA	RESULTADO	LAVADO
	DIA *	DISTRIBUCION	ESTERILIDAD DIA *	SIEMERA DIA *	MATERIAL DIA *
1	1	DA - 1 60	2	17	18
	1	DA - 1 60	2	17	18
	3	DA - 1 60	4	19	20
	3	DA - 2 60	4	19	20
2	8	DA - 2 60	9	24	25
	8	DA - 2 60	9	24	25
	10	DA - 3 60	11	25	26
	10	DA - 3 60	11	25	26
3	15	DA - 3 60	16	30	1
	15	DA - 4 60	16	30	1
	17	DA - 4 60	18	1	2
	17	DA - 4 60	18	1	2
4	22	DA - 1 50	23	6	7
	22	DA - 1 50	23	6	7
	24	DA - 1 50	25	8	9
	24	DA - 2 50	25	8	9

TABLA No. 2

PROGRAMA DE ESTERILIZACION - ANALISIS MICROBIOLOGICO
 * DIAS CALENDARIO MENSUAL

que el de una ampollita.

Para cumplir con los objetivos antes señalados se realizó una distribución de frascos viales en el autoclave, la distribución fué aquella en la que se obtuvieron los mejores resultados de la primera etapa del estudio, es decir con tapones de hule, repitiéndose por ocho veces, en donde el número de frascos viales por cada una de las charolas de la distribución de carga en el autoclave, destinados para el análisis microbiológico se reduce en cinco ocasiones (100, 60, 50, 20 y 10 frascos viales por charola), siendo el tiempo estipulado de estudio un mes.

Así mismo se utilizaron: doce termopares, cinco indicadores de tiempo, tres indicadores circulares de distribución de vapor, para cada ciclo de esterilización. Los microorganismos de prueba que se utilizaron fueron: C. albicans, E. coli, S. aureus cada uno de los microorganismos se probaron en tres concentraciones diferentes: 10^7 microorganismos / frasco vial, 10^6 microorganismos / frasco vial y 10^4 microorganismos / frasco vial.

Las concentraciones de 10^7 microorganismos / frasco vial de cada uno de los 3 microorganismos se utilizó como Desafío máximo esperando que satisficiera la condición de que fuera aprobado en un mínimo de tres pruebas, en virtud de haber obtenido resultados aprobatorios en la etapa anterior del estudio de validación, en este caso el número de frascos viales destinados para el análisis microbiológico fué de 100 frascos viales por contenedor. En los cinco ciclos restantes se utilizaron concentraciones de 10^6 microorganismos / frasco vial y 10^4 microorganismos/

frasco vial de cada uno de los microorganismos, siendo la muestra para el análisis microbiológico de 60, 50, 30, 20 y 10 frascos viales por charola.

El tamaño de muestra destinado para la prueba de pirógenos se mantiene constante, ya que en esta etapa se incluye este control.

Una mejor apreciación del desarrollo del trabajo de esta etapa se observa en la secuencia indicada en el Diagrama No. 2, pág. 26

Etapa III. Validación del proceso de esterilización utilizando ampolletas.

Los objetivos correspondientes a esta etapa se pueden resumir en:

Realizar el ciclo de esterilización con el producto en estudio.

Desafiar el proceso de esterilización con el producto farmacéutico, una vez controladas las variables críticas de operación.

En vista de que los objetivos de la segunda y tercera etapa del estudio de validación no difieren, en cuanto al trabajo a realizar, la secuencia de trabajo se presenta de manera similar, variando únicamente en la etapa del llenado del producto.

El muestreo por tratarse del desafío final, (solamente para fines de este estudio), se realizó con una muestra de cien unidades para el análisis microbiológico, y la concentración de

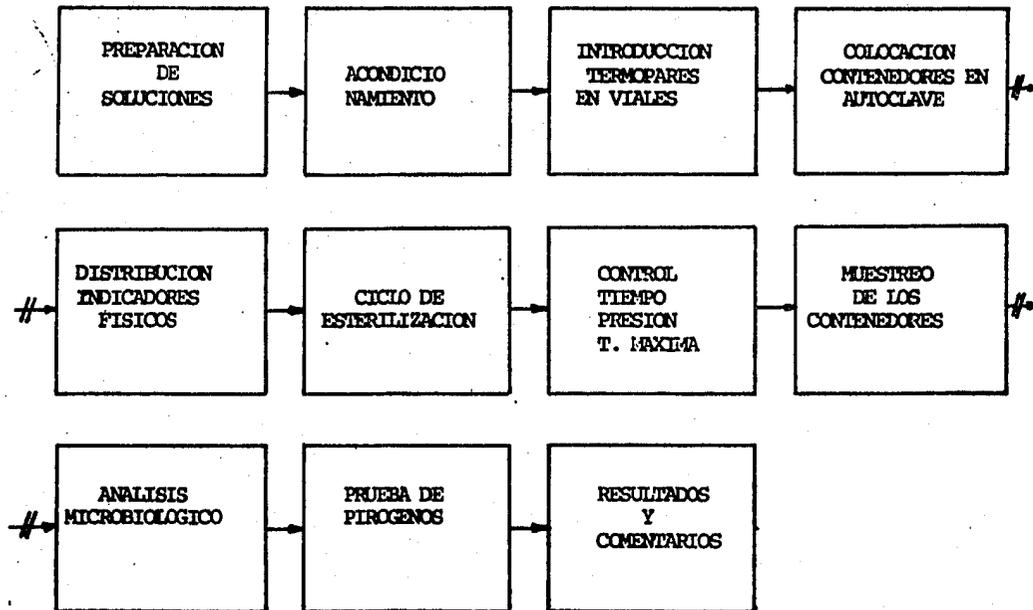


DIAGRAMA No. 2
SECUENCIA DE TRABAJO (SEGUNDA ETAPA)

10^7 microorganismos / muestra.

En esta etapa los controles se realizaron por triplicado y los análisis a los que se sometieron las muestras fueron exactamente los mismos que se usan rutinariamente en Control de Calidad.

Una mejor apreciación del desarrollo de trabajo de esta etapa se indica en la secuencia del Diagrama No. 3, pág 28

Trabajo Experimental

Como ya se había comentado en la sección de Metodología y consideraciones para la validación, este estudio está dividido en tres etapas; para seguir con la misma secuencia, el trabajo experimental se expone de la siguiente manera:

Etapa I. Validación del proceso de esterilización utilizando tapones de hule.

Siguiendo la secuencia de trabajo presentada en el Diagrama No. 1, pág. 22, se tiene que:

- Se trabajó con 15000 tapones de hule, los cuales se expusieron durante 48 horas a la contaminación ambiental en el lugar común de almacenamiento, antes de realizar el ciclo de esterilización. En los análisis microbiológicos del medio ambiente que se realizan periódicamente, se encontró que los microorganismos presentes no eran patógenos.

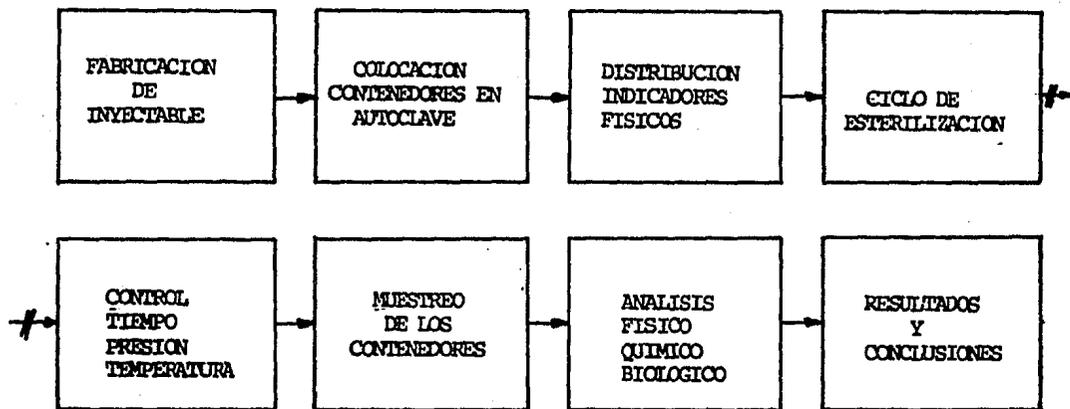


DIAGRAMA No. 3
SECUENCIA DE TRABAJO (TERCERA ETAPA)

- Se repartieron los tapones de hule en 30 contenedores adecuados, la distribución de los tapones de hule se hizo por peso, ya que de esta manera se facilita el trabajo.

- Se distribuyeron los contenedores en los cinco niveles del autoclave; esto se condujo de la siguiente manera:

Al personal encargado del manejo del autoclave y área estéril se le pidió que hiciera tres diferentes distribuciones de los contenedores en el autoclave, de esta manera, el personal inicia su colaboración en el estudio de validación.

- Distribuidos los contenedores, se colocaron 12 termómetros de temperatura máxima y 20 tiras de esporas. Las cuatro diferentes distribuciones de la carga en el autoclave elegidas de las propuestas por el personal, se presentan en la sección de Resultados, Esquema 1, 2, 3 y 4

- Teniendo los contenedores en el autoclave se realizó el ciclo de esterilización, controlando durante el mismo los parámetros tales como temperatura, presión, tiempo de exposición.

- Concluido el ciclo de esterilización se anotaron las temperaturas marcadas por los termómetros de temperatura máxima. Estos resultados se presentan en la sección de Resultados, Tabla No. 3

De los diferentes niveles del autoclave, se muestrearon los tapones de hule, y se sacaron los controles biológicos para su correspondiente análisis microbiológico. Para elegir las muestras destinadas al análisis microbiológico se tomó en cuenta el siguiente criterio:

- Se analizaron aquellas muestras en donde el termopar

indicaba una temperatura baja y/o un factor de esterilización (F_0) alto, en donde se hubiera detectado alguna zona fría y/o caliente en estudios previos (Temperatura de distribución); así también se analizaron las muestras en donde los indicadores detectaron " zonas anormales". Si no se presentaba alguna de estas condiciones, el muestreo se realizó en forma aleatoria.

- Se anotaron los resultados obtenidos del análisis microbiológico, los cuales se presentan en la sección de Resultados, Tabla No. 4, 5, 6, y 7.

Etapa II. Validación del proceso de esterilización utilizando frascos viales.

Esta etapa se basa en los datos obtenidos durante el desarrollo del medicamento, así como en la Biovalidación, ya que se requiere conocer los microorganismos y las concentraciones a las que se van a trabajar para realizar el Desafío del ciclo de esterilización.

Siguiendo con la secuencia de trabajo presentada en el Diagrama No. 2, pág. 26 la segunda etapa de este estudio se inició de la siguiente manera:

Se fabricó la solución inyectable, excluyendo el principio activo, pero cumpliendo con los requisitos de toda fabricación. De esta solución a granel, se separó el 30% de ésta, y se acondicionó en frascos viales. A la solución líquida a granel resultante se le adicionaron los microorganismos para llegar a las concentraciones establecidas, 10^7 , 10^6 , 10^4 microorganismos-

mos / frascos viales. La proporción preestablecida para muestras controles positivos y muestras controles negativos es de 70 a 30, esta proporción fué fijada en forma aleatoria.

Las suspensiones conteniendo los microorganismos se acondicionaron, marcandose los frascos viales como controles positivos aquellos frascos que contenían microorganismos, y controles negativos aquellos que solamente contenían el placebo del inyectable.

Se distribuyeron los indicadores de temperatura y de vapor, así como los frascos viales en las charolas de acero inoxidable, en los diferentes niveles del autoclave. La distribución de las muestras conteniendo microorganismos se hizo de acuerdo a los resultados obtenidos en el estudio de Temperatura de distribución, así como a los datos obtenidos en previos ciclos de esterilización.

Las termopares se introdujeron en los frascos viales como controles negativos, ya que de esta forma se abarcó un área de estudio mayor en el autoclave. Para los diferentes niveles del autoclave, la distribución de los termopares se hizo siguiendo los resultados obtenidos en el estudio de Temperatura de distribución.

La distribución de los frascos viales en las charolas, en el autoclave, se puede observar en la sección de Resultados, Esquema 5

Se procedió con el ciclo de esterilización, controlando durante éste, la temperatura, la presión y el tiempo de exposición.

Se registraron las temperaturas marcadas por los termopares (Temperatura de penetración L, así como los Factores de esterilización F_0 . Se tomaron las muestras de los diferentes niveles del autoclave y se procedió a su análisis microbiológico, la relación de viales controles positivos y controles negativos, para sus respectivos análisis microbiológicos se mantuvo de acuerdo a la relación 70 a 30.

Luego se comprobaron los resultados de los indicadores utilizados. Para finalizar, se anotaron los resultados obtenidos en el análisis microbiológico. Ver sección de Resultados, Tabla No. 8

Etapa III. Válidación del proceso de esterilización utilizando ampollitas.

El trabajo de esta etapa se sustenta en los comentarios de la metodología y en la secuencia de trabajo presentada en el Diagrama No. 3, pág. 28, es decir: se fabricó la solución inyectable. Se contaminó, con los microorganismos requeridos a la concentración especificada, una parte del líquido inyectable a granel.

Se marcaron las ampollitas con controles positivos y controles negativos, previo llenado de éstas. Distribuir las ampollitas en las charolas en los diferentes niveles del autoclave, de acuerdo a los resultados de la Etapa II del estudio; así como los termopares, indicadores. Ver sección de Resultados, Esquema 6

Realizar el ciclo de esterilización controlando los pará

metros clave. Seleccionar las muestras destinadas a los diferentes análisis, anotando la localización de las mismas. Correr los análisis y pruebas correspondientes del inyectable, es decir los análisis rutinarios de la elaboración del producto. En este aspecto es importante señalar que las muestras para la prueba de Pirógenos se mantuvo siempre constante y la toma de las mismas se realizó de acuerdo a las especificaciones del manual de control interno. Los resultados de los análisis microbiológicos se presentan en la sección de Resultados, Tabla No. 9

Resultados

Debido a la gran cantidad de resultados obtenidos en el estudio de validación, a continuación se presentan algunos de ellos, como ejemplo.

En la etapa I del estudio de validación, al trabajar con tapones de hule, se hizo una variación en el tamaño de muestra destinada al análisis microbiológico; de tal forma que los tamaños de muestra fueron: 100, 60, 50, 30, 25 y finalmente 10 tapones por contenedor.

Se enfatiza que, solamente se presentan los resultados de una distribución de carga de esterilización para un tamaño de muestra, asumiéndose que el resto de los resultados fueron similares para esa misma distribución.

Resultados Experimentales

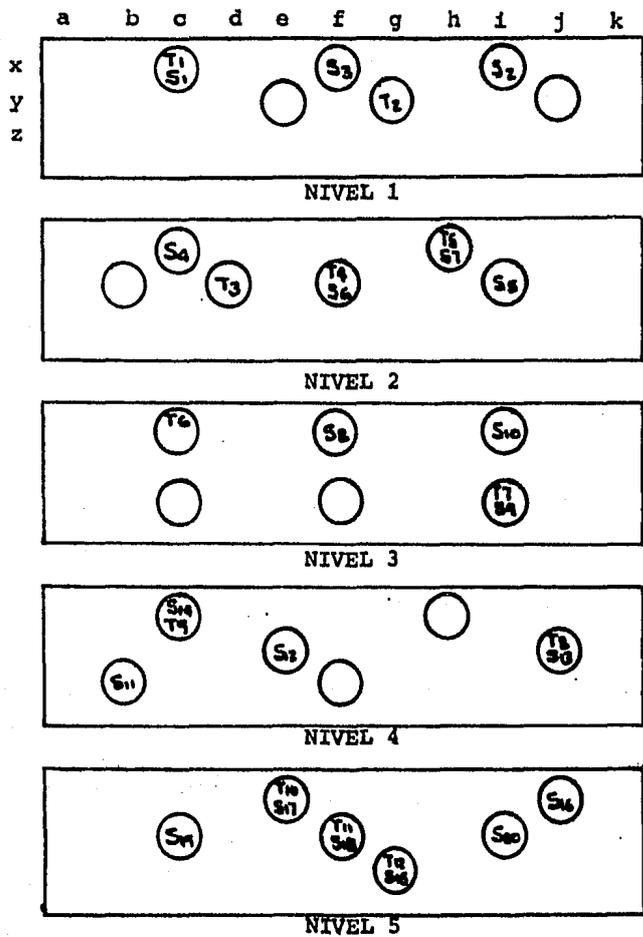
A continuación se presentan los resultados obtenidos a través del estudio de validación del proceso de esterilización en autoclave. Para fines de registro se presentan:

Esquemas 1,2,3 y 4. en donde a, b, ... k son las columnas del autoclave; x,y,z son los renglones de las charolas del autoclave; S tiras de esporas (indicador biológico) y T son los termómetros de temperatura máxima.

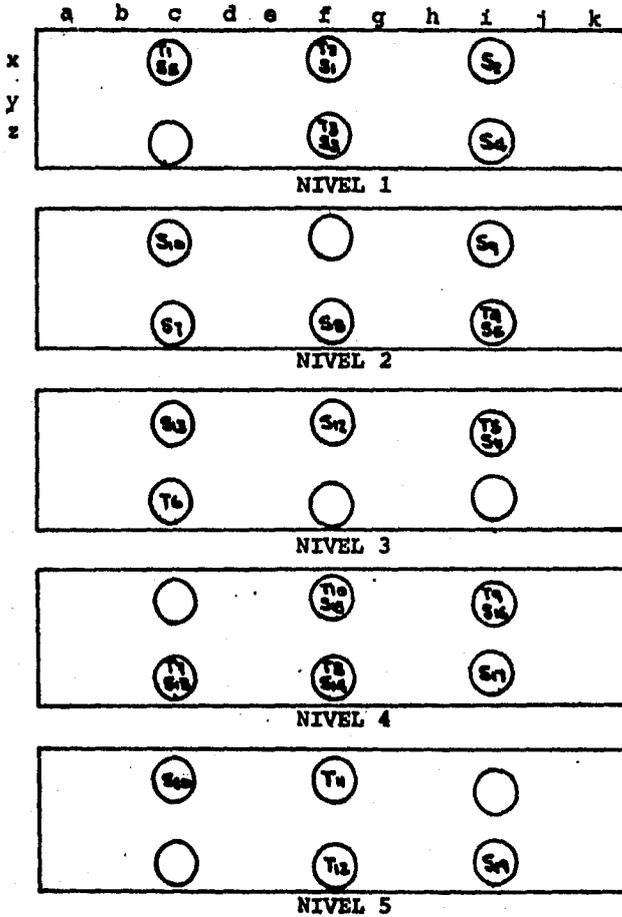
Esquemas 5 y 6 en donde a,b, ...h es la posición del contenedor en las charolas del autoclave y T termómetro de temperatura máxima.

Tablas de Resultados 4,5,6 y 7. Los posiciones se determinan de la siguiente manera: el número corresponde al nivel del autoclave en donde se encuentra la tira de espora (Indicador biológico) y/o el contenedor con los tapones de hule, la primera letra corresponde a la columna y la segunda letra a la fila o renglón de la charola en donde se localiza el contenedor con el indicador biológico y/o tapón de hule, dandonos de esta manera las coordenadas para su localización.

Tablas de Resultados 8 y 9. La localización de los frascos viales se determina de la siguiente manera: el número significa el nivel del autoclave en donde se encuentra el frasco vial en estudio, y la letra indica la charola en que se encuentra el frasco vial.

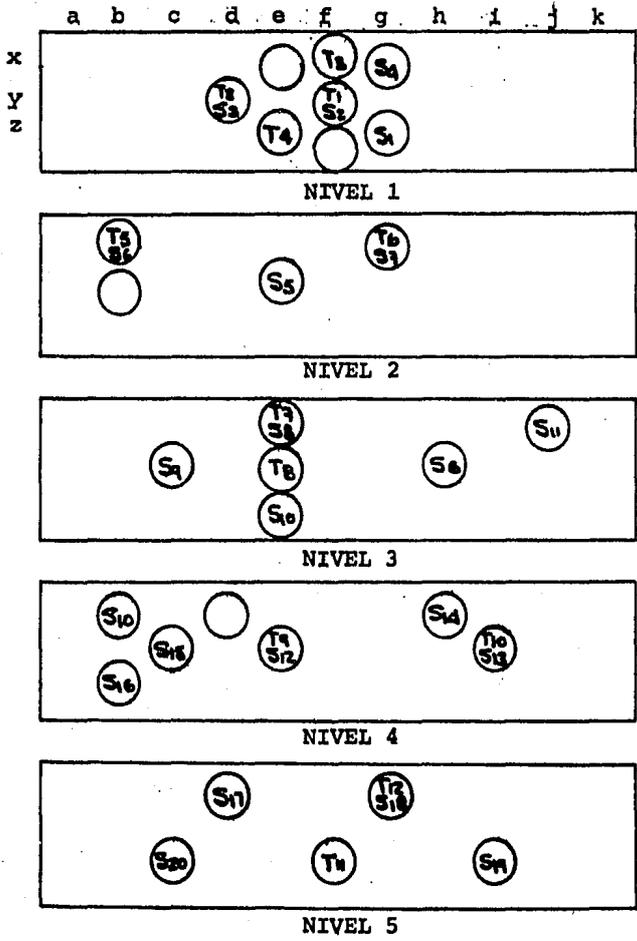


ESQUEMA 1
DISTRIBUCION DE CARGA EN EL AUTOCLAVE DA - 1



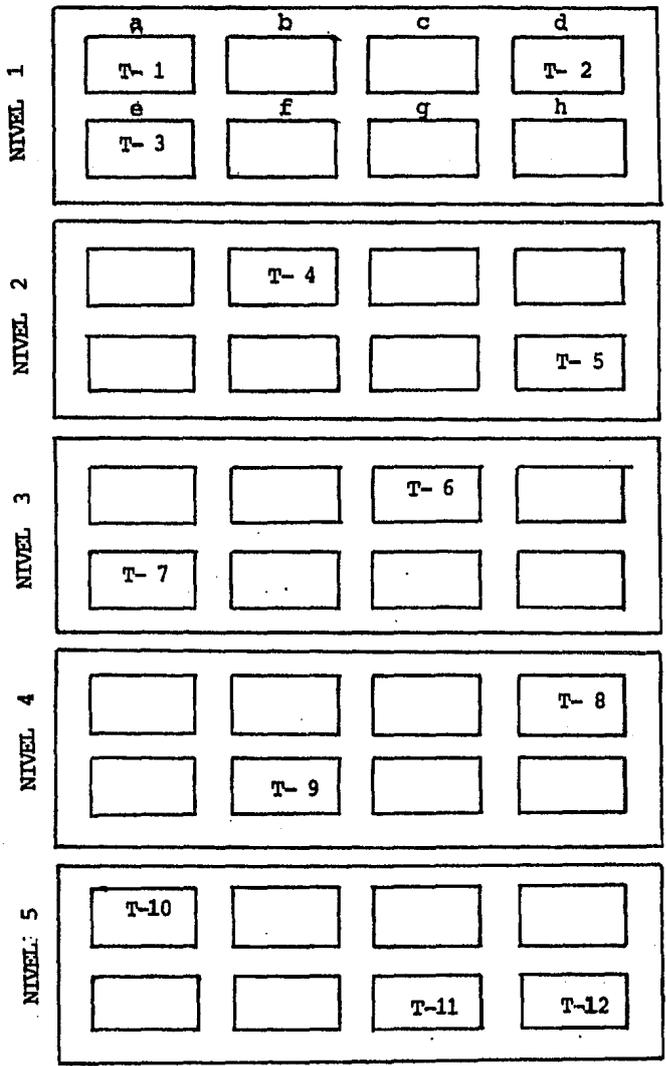
ESQUEMA 2

DISTRIBUCION DE CARGA EN EL AUTOCLAVE DA.- 2

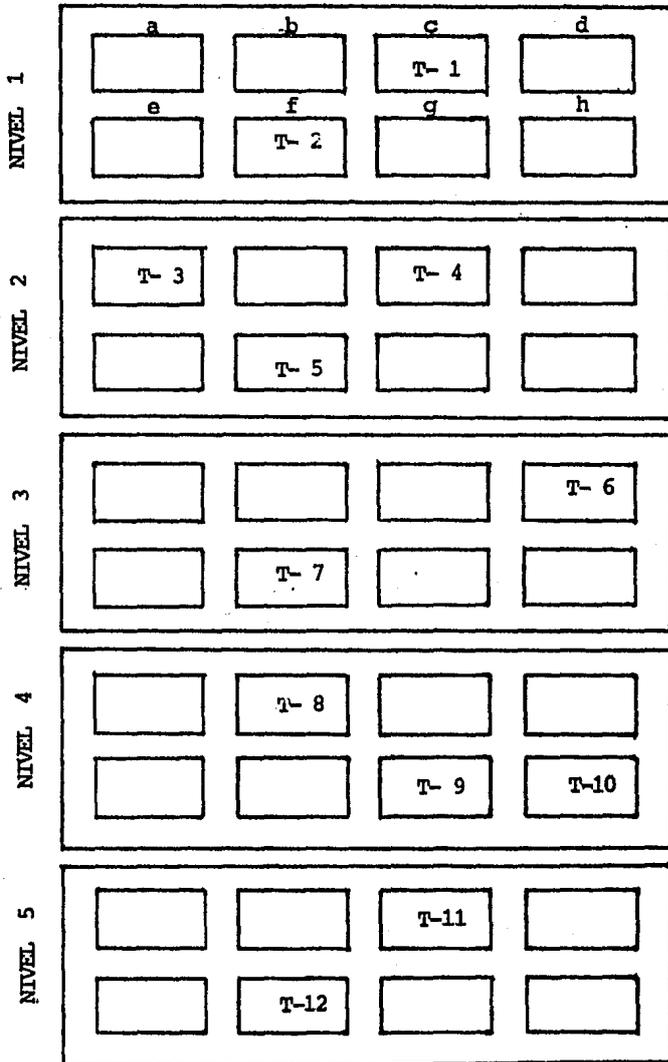


ESQUEMA 4

DISTRIBUCION DE CARGA EN EL AUTOCLAVE DA - 4



ESQUEMA 5
 DISTRIBUCION DE FRASCOS VIALES/CHAROLAS
 EN EL AUTOCLAVE.



ESQUEMA 6
 DISTRIBUCION DE AMPOLLETAS/CHAROLAS
 EN EL AUTOCLAVE

TEMPERATURAS REGISTRADAS EN LOS TERMOMETROS DE TEMPERATURA MAXIMA. (ETAPA I DEL ESTUDIO DE VALIDACION)

NUMERO DE TERMOMETRO TEMPERATURA MAXIMA	DISTRIBUCION			
	DA-1 (°C)	DA-2 (°C)	DA-3 (°C)	DA-4 (°C)
1	125	126	125	125
2	126	126	125	125
3	125	127	126	127
4	126	125	126	126
5	127	126	125	127
6	126	125	125	125
7	126	127	126	126
8	127	125	126	125
9	125	126	125	125
10	125	126	126	126
11	126	125	127	126
12	125	126	125	125

TABLA No. 3

RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO REALIZADO A TAPONES DE HULE E INDICADORES BIOLOGICOS. (ETAPA I DEL ESTUDIO DE VALIDACION), CORRESPONDIENTES A LA DISTRIBUCION DE CARGA DA - 2 DEL ESQUEMA 2

TIPO DE ESPORA (COLOCACION)	POSICION TAPON DE HULE (COLOCACION)	RESULTADO
1 ox		CREC. NEG.
1 fx		CREC. NEG.
1 ix		CREC. NEG.
1 fs		CREC. NEG.
1 is		CREC. NEG.
	1 ox	CREC. NEG.
	1 fx	CREC. NEG.
	1 ix	CREC. NEG.
	1 ox	CREC. NEG.
	1 fs	CREC. NEG.
	1-is	CREC. NEG.
2 ox		CREC. NEG.
2 fx		CREC. NEG.
2 ox		CREC. NEG.
2 fs		CREC. NEG.
2 is		CREC. NEG.
	2 ox	CREC. NEG.
	2 fx	CREC. NEG.
	2 ix	CREC. NEG.
	2 ox	CREC. NEG.
	2 fs	CREC. NEG.
	2 is	CREC. NEG.
3 ox		CREC. NEG.
3 fx		CREC. NEG.
3 ix		CREC. NEG.
	3 ox	CREC. NEG.
	3 fx	CREC. NEG.
	3 ix	CREC. NEG.
	3 ox	CREC. NEG.
	3 fs	CREC. NEG.
	3 is	CREC. NEG.
4 fx		CREC. NEG.
4 ix		CREC. NEG.
4 ox		CREC. NEG.
4 fs		CREC. NEG.
4 is		CREC. NEG.
	4 ox	CREC. NEG.
	4 fx	CREC. NEG.
	4 ix	CREC. NEG.
	4 ox	CREC. NEG.
	4 fs	CREC. NEG.
	4 is	CREC. NEG.
5 ox		CREC. NEG.
5 is		CREC. NEG.
	5 fx	CREC. NEG.
	5 ix	CREC. NEG.
	5 ox	CREC. NEG.
	5 fs	CREC. NEG.
	5 is	CREC. NEG.

RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLÓGICO REALIZADO A TAPONES DE HULE E INDICADORES BIOLÓGICOS. (ETAPA I DEL ESTUDIO DE VALIDACION), CORRESPONDIENTES A LA DISTRIBUCION DE CARGA DA - 4 DEL ESQUEMA 4

TAMA DE ESPORA (COLOCACION)	POSICION TAPON DE HULE (COLOCACION)	RESULTADO
1 ga		CREC. NEG.
1 dy		CREC. NEG.
1 fy		CREC. NEG.
1 gt		CREC. NEG.
	1 ax	CREC. NEG.
	1 fx	CREC. NEG.
	1 gx	CREC. NEG.
	1 dy	CREC. NEG.
	1 fy	CREC. NEG.
	1 gt	CREC. NEG.
	1 ez	CREC. NEG.
	1 fs	CREC. NEG.
2 bx		CREC. NEG.
2 gx		CREC. NEG.
2 ey		CREC. NEG.
	2 cx	CREC. NEG.
	2 gx	CREC. NEG.
	2 by	CREC. NEG.
	2 ey	CREC. NEG.
3 ax		CREC. NEG.
3 jx		CREC. NEG.
3 cy		CREC. NEG.
3 hy		CREC. NEG.
3 ez		CREC. NEG.
	3 ax	CREC. NEG.
	3 jx	CREC. NEG.
	3 cy	CREC. NEG.
	3 ey	CREC. NEG.
	3 hy	CREC. NEG.
	3 ez	CREC. NEG.
4 bx		CREC. NEG.
4 hx		CREC. NEG.
4 cy		CREC. NEG.
4 ey		CREC. NEG.
4 iy		CREC. NEG.
4 bx		CREC. NEG.
	4 bx	CREC. NEG.
	4 dx	CREC. NEG.
	4 hx	CREC. NEG.
	4 cy	CREC. NEG.
	4 ey	CREC. NEG.
	4 iy	CREC. NEG.
	4 bx	CREC. NEG.
5 dx		CREC. NEG.
5 gx		CREC. NEG.
5 cx		CREC. NEG.
5 iz		CREC. NEG.
	5 dx	CREC. NEG.
	5 gx	CREC. NEG.
	5 cx	CREC. NEG.
	5 fs	CREC. NEG.
	5 iw	CREC. NEG.

RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO REALIZADO A FRASCOS VIALES. (ETAPA II DEL ESTUDIO DE VALIDACION), CORRESPONDIENTES A LA DISTRIBUCION DE CARGA DA - 2 DEL ESQUEMA 5

POSICION	VIALES		RESULTADOS	
	C. POSITIVO	C. NEGATIVO	ESTERILIDAD	PIROGENOS
1A	2	0	CREC. NEG.	NEG.
1B	1	1	CREC. NEG.	NEG.
1C	2	1	CREC. NEG.	NEG.
1D	1	1	CREC. NEG.	NEG.
1E	2	0	CREC. NEG.	NEG.
1F	2	1	CREC. NEG.	NEG.
1G	1	2	CREC. NEG.	NEG.
1H	3	2	CREC. NEG.	NEG.
2A	1	2	CREC. NEG.	NEG.
2B	2	1	CREC. NEG.	NEG.
2C	2	0	CREC. NEG.	NEG.
2D	2	1	CREC. NEG.	NEG.
2E	3	0	CREC. NEG.	NEG.
2F	1	1	CREC. NEG.	NEG.
2G	1	1	CREC. NEG.	NEG.
2H	2	0	CREC. NEG.	NEG.
3A	2	1	CREC. NEG.	NEG.
3B	2	1	CREC. NEG.	NEG.
3C	3	0	CREC. NEG.	NEG.
3D	2	0	CREC. NEG.	NEG.
3E	1	1	CREC. NEG.	NEG.
3F	1	2	CREC. NEG.	NEG.
3G	2	0	CREC. NEG.	NEG.
3H	1	1	CREC. NEG.	NEG.
4A	2	0	CREC. NEG.	NEG.
4B	1	2	CREC. NEG.	NEG.
4C	3	1	CREC. NEG.	NEG.
4D	2	0	CREC. NEG.	NEG.
4E	2	1	CREC. NEG.	NEG.
4F	2	0	CREC. NEG.	NEG.
4G	1	1	CREC. NEG.	NEG.
4H	1	1	CREC. NEG.	NEG.
5A	2	0	CREC. NEG.	NEG.
5B	1	2	CREC. NEG.	NEG.
5C	2	0	CREC. NEG.	NEG.
5D	1	1	CREC. NEG.	NEG.
5E	1	2	CREC. NEG.	NEG.
5F	2	0	CREC. NEG.	NEG.
5G	2	1	CREC. NEG.	NEG.
5H	3	0	CREC. NEG.	NEG.

**RESULTADOS DEL ANALISIS MICROBIOLOGICO REALIZADO EN
 AMPOLLEAS. (ETAPA III DEL ESTUDIO DE VALIDACION),
 CORRESPONDIENTES A LA DISTRIBUCION DE CARGA DA - 2
 DEL ESQUEMA 6**

POSICION	AMPOLLEAS		RESULTADOS	
	C. POSITIVO	C. NEGATIVO	ESTERILIDAD	PIROGENOS
1A	2	0	CNC. NEG.	NEG.
1B	1	1	CNC. NEG.	NEG.
1C	1	2	CNC. NEG.	NEG.
1D	1	1	CNC. NEG.	NEG.
1E	2	0	CNC. NEG.	NEG.
1F	3	0	CNC. NEG.	NEG.
1G	2	1	CNC. NEG.	NEG.
1H	2	1	CNC. NEG.	NEG.
2A	2	0	CNC. NEG.	NEG.
2B	1	1	CNC. NEG.	NEG.
2C	1	1	CNC. NEG.	NEG.
2D	3	0	CNC. NEG.	NEG.
2E	2	1	CNC. NEG.	NEG.
2F	2	0	CNC. NEG.	NEG.
2G	2	1	CNC. NEG.	NEG.
2H	1	2	CNC. NEG.	NEG.
3A	3	0	CNC. NEG.	NEG.
3B	1	2	CNC. NEG.	NEG.
3C	2	1	CNC. NEG.	NEG.
3D	2	0	CNC. NEG.	NEG.
3E	1	1	CNC. NEG.	NEG.
3F	2	1	CNC. NEG.	NEG.
3G	1	1	CNC. NEG.	NEG.
3E	2	0	CNC. NEG.	NEG.
4A	2	0	CNC. NEG.	NEG.
4B	2	2	CNC. NEG.	NEG.
4C	2	0	CNC. NEG.	NEG.
4D	2	1	CNC. NEG.	NEG.
4E	1	0	CNC. NEG.	NEG.
4F	1	1	CNC. NEG.	NEG.
4G	2	0	CNC. NEG.	NEG.
4H	1	2	CNC. NEG.	NEG.
5A	2	0	CNC. NEG.	NEG.
5B	1	1	CNC. NEG.	NEG.
5C	1	0	CNC. NEG.	NEG.
5D	2	1	CNC. NEG.	NEG.
5E	2	0	CNC. NEG.	NEG.
5F	2	1	CNC. NEG.	NEG.
5G	2	2	CNC. NEG.	NEG.
5H	1	1	CNC. NEG.	NEG.

Condiciones de trabajo generadas por los resultados

Después de haber realizado el estudio de validación del proceso de esterilización se presenta la afinación de los datos con los que se empezó a trabajar, los cuales serán tomados como base para la elaboración del Manual de Operaciones.

Tamaño de carga en el autoclave

En el autoclave, se introducirá una carga de ampollitas de vidrio neutro conteniendo 2.2 ml de la solución inyectable con una concentración del principio activo (Cimetidina base) de 150 mg / ml.

Las ampollitas se distribuirán en 40 charolas de acero inoxidable, en los cinco niveles del autoclave.

Distribución de carga en el autoclave

Las charolas conteniendo las ampollitas, no se distribuirán hasta que se especifique, de la misma manera que se muestra en el Esquema 6 (Validación del proceso de esterilización utilizando ampollitas. Etapa III).

Los termopares se irán modificando de posición en cada ciclo de esterilización, anotándose siempre su localización.

Los indicadores biológicos se repartirán en los diferentes niveles del autoclave. De igual manera, los indicadores físicos y químicos serán distribuidos de manera aleatoria. Esto es debido, a que no se encontró un punto en el autoclave que requiera " Vigilancia constante ". En el momento en que se observe un punto frío y/o caliente, se procederá a controlar adecuada

mente.

Manual de Operación del autoclave

El manual de operación del autoclave corresponde a un seguimiento preciso de las condiciones recomendadas por el proveedor del equipo.

Método de Muestreo

El muestreo va a estar sujeto a la información proporcionada por los termopares colocados en los diferentes niveles del autoclave, así como la de los indicadores utilizados en cada proceso normal del inyectable.

Registro de la Validación

Para realizar el registro ó certificación de la validación, será necesario incluir la siguiente información:

- Fórmula general del fabricación
- Manual de fabricación
- Especificaciones del producto
- Tarjetas de limpieza del equipo
- Tarjetas de peso de materia prima
- Hojas de calibración de termopares
- Indicadores biológicos
- Gráficas de temperatura
- Esquema de la distribución de carga en el autoclave

- Reporte físico - químico del producto
- Reporte de esterilidad
- Reporte de pirógenos
- Información referente al autoclave validado (descripción, materiales de construcción, localización, etc.)

D I S C U S S I O N

En la etapa I del estudio de validación, al trabajar con las cuatro diferentes distribuciones de carga en el autoclave se eligió para las etapas subsecuentes, la distribución DA-2 debido a que hace más sencilla la tarea a realizar por el personal, ya que se simplifica en tanto que no le es necesario recurrir a diagramas explicativos.

El estudio de validación se realizó para una carga constante, por lo que en caso de aumentar la producción del inyectable, el ciclo de esterilización se realizaría tantas veces como fuera necesario hasta completar el lote producido, pero sin modificar la distribución particular en el autoclave.

En todas sus etapas el estudio de validación cumplió con las expectativas generadas al respecto. Debido a esto el muestreo para los análisis microbiológicos en una fabricación del inyectable, no puede establecerse anticipadamente, ya que está en función de los resultados por obtenerse en los ciclos de esterilización rutinarios.

En la etapa I del estudio de validación se trabajó con diferentes tamaños de muestras destinados al análisis microbiológico como fueron 100, 60, 50, 20 y 10. En la etapa II primeramente se inició con muestras de 100 unidades para la concentración de 10^7 microorganismos por frasco vial, en los subsecuentes ciclos de esterilización se utilizaron diferentes tamaños de mues-

tra como son: 100, 60, 50, 20 y 10. En la etapa III por tratarse del desafío final se trabajó con 100 muestras para el análisis microbiológico. El objeto de reducir el tamaño de muestras es debido a la necesidad de encontrar la mínima cantidad de muestras que sean representativas. Sin embargo, para aumentar la confiabilidad y seguridad en el análisis microbiológico, en fabricaciones siguientes del inyectable, el tamaño de muestra será de 40 unidades, es decir, 4 veces el mínimo encontrado.

CONCLUSIONES

- Para obtener resultados positivos en un estudio de validación, es necesaria la participación de las áreas de producción, desarrollo, control de calidad y mantenimiento.

- El mínimo cambio realizado debe ser discutido y aprobado por las áreas participantes.

- El personal juega un papel importantísimo, ya que el trabajo realizado no tiene sentido si el personal de operación no se concientiza de su labor.

- Es necesario que el personal de operación participe activamente en el trabajo realizado durante el estudio de validación, para que se sienta parte de él.

- El supervisor de producción tiene la obligación constante de verificar que se realice el proceso de esterilización con apego total a los resultados del estudio de validación.

- Un programa de validación no concluye nunca, es necesario trabajar continuamente realizando recalificaciones y desafíos a intervalos establecidos; ó bien, a la menor variación en los parámetros del proceso.

- Al finalizar el estudio de validación se tiene la seguridad de que se ha aumentado la confiabilidad en los productos es decir, en la calidad, más no se afirma que un producto jamás

pueda salir defectuoso. Se acepta que la validación incrementa el grado de seguridad del producto y que no substituye al concepto de Control Total de Calidad.

- La validación de procesos tiene implicaciones amplias pero esta al alcance de todos, ya que no se necesita elementos sofisticados para realizarla, sino simplemente deseos de mejorar los procesos ya existentes en la Industria Farmacéutica.

- El estudio de validación debe ser un trabajo que se realice en la etapa del desarrollo del medicamento, en la reformulación del mismo, en la adquisición de un equipo nuevo ó en las construcciones de nuevas instalaciones de la planta farmacéutica.

- Las tres etapas del estudio de validación realizado en este trabajo, pueden extrapolarse a otras operaciones:

- En este estudio se validaron las condiciones de trabajo del equipo, el manual de operación, así como las recomendaciones proporcionadas por el proveedor del mismo.

- El tamaño de muestra para el análisis microbiológico de 10 unidades se incrementa después de realizar este estudio en cuatro veces, es decir, el tamaño de muestra será de 40 unidades, de esta manera se está incrementando en esa misma proporción la confiabilidad del estudio, sin un aumento de costos notables.

- Si bien es cierto que es tarea de Control de Calidad verificar que se sigan los procedimientos establecidos según las Buenas Prácticas de Manufactura, después de haber realizado este trabajo, cabe enfatizar que será co-responsabilidad de toda Area involucrada en el estudio de validación hacer respetar y respetar todos los lineamientos emanados del estudio. Unicamente será tarea de Control de Calidad el de tener una supervisión constante sobre el proceso.

A P E N D I C E

Bioidadación

Este aspecto es el punto de partida para el estudio de validación de esterilización para un producto determinado, ya que es requisito indispensable conocer los microorganismos comunes que están presentes en el producto antes de su esterilización.

Este estudio se realiza durante la etapa del desarrollo del medicamento, y antes de iniciar el estudio de validación, es conveniente realizarlo, para conocer la naturaleza de los microorganismos así como la concentración a la que se encuentran.

Calibración de termopares y termómetros de temperatura máxima

- Insertar los termopares dentro de la cámara del autoclave a través de una entrada hermética.

- Conectar los termopares a una registradora múltiple con una escala de temperatura con graduaciones no mayores de 1°C ó 2°F.

- Sumergir los termopares y/o termómetros de temperatura máxima en un baño de referencia de la misma profundidad y tan cercanos como sea posible del bulbo de un termómetro certificado de referencia.

- Si se usa el baño de calentamiento (aceite ó glicerol) para la calibración, se recomienda que se use también una temperatura que se aproxime a la que se usa en el ciclo de este-

rilización.

- También la exactitud por encima del monto de la temperatura operacional (100°C para temperatura de esterilización), deberá ser determinada para eliminar un error significativo al integrar matematicamente los factores del proceso de esterilización, durante el calentamiento y el enfriamiento.

- Echar a andar la registradora y permitir a los componentes que se equilibren antes de que se haga los ajustes.

- Comparar las lecturas de la registradora con los termómetros de referencia.

- Ajustar la registradora de tal manera que la lectura este dentro de 0.5°C ó 1°F de la lectura de referencia.

- Aquellos termopares que no concuerden en sus lecturas con el termómetro de referencia deberá verificarse por corto circuito, conexiones falsas, polaridad invertida, etc. Si el problema no puede corregirse, estos termopares deberán ser reemplazados.

- Se recomienda verificar la calibración antes y después de un estudio de validación; después de que los termopares hayan sido colocados en el autoclave ó después de que las partes electrónicas de la registradora hayan sido reparadas.

Temperatura de distribución

Es sabido que la manera en que se cargue interiormente el autoclave afecta la distribución de la temperatura, dependiendo de la configuración y el volúmen de los recipientes. Es por esto

que el estudio de distribución de calor es un trabajo arduo, pero de gran relevancia.

Para realizar el estudio de temperatura de distribución se sugiere el siguiente método:

- Colocar los termopares en puntos del autoclave elegidos al azar.
- Realizar el ciclo de esterilización específico.
- Registrar las temperaturas, anotando la posición del termopar.
- Repetir la operación variando las posiciones de los termopares.
- Identificar los puntos fríos y calientes encontrados en el autoclave.

Si las desviaciones de temperatura son mayores de ± 2.5 °C ó ± 4.5 °F de la temperatura media de la cámara, puede indicar mal funcionamiento de la cámara. Generalmente la uniformidad de temperatura puede ser considerada aceptable si la desviación es menos de ± 1 °C ó ± 2 °F de la temperatura media de la cámara.

Temperatura de Penetración

Los estudios de penetración del calor se efectúan para asegurar que el contenedor más frío dentro de un modelo de carga estará consistentemente expuesto al valor de F_0 adecuado, pa

ra conseguir la destrucción de los microorganismos.

La manera de realizar este estudio es:

- Distribuir los contenedores en el autoclave.
- Colocar los termopares en los diferentes contenedores basandose en el estudio de temperatura de distribución.
- Introducir los termopares de manera que el sensor quede en el seno del liquido a esterilizar y tan lejos de las paredes como sea posible.
- Realizar el ciclo de esterilización.
- Registrar las temperaturas indicadas por los termopares.

Debe tenerse en cuenta cuando se realiza por primera vez este estudio lo siguiente: Cuando hay varios niveles en el autoclave, y los termopares se encuentran distribuidos en éstos, debe compararse la diferencia de temperatura entre los niveles de acuerdo con la fórmula:

$$\Delta FL = FL - FT$$

Donde:

FL = Promedio de temperatura de cada capa.

FT = Promedio de temperatura para toda la carga.

Si hay una diferencia significativa en una prueba de T

($p = 0.05$) entre F_L y F_T , la mayoría de los termopares deberán estar concentrados en la capa fría en los estudios subsecuentes. Si no hay una diferencia significativa, distribuir los termopares homogéneamente por toda la carga en los siguientes estudios.

Se necesitan estudios repetidos para establecer que los puntos fríos son reproducibles. Si el punto frío no es consistente, deben realizarse estudios adicionales para determinar el punto que es más frío la mayor parte del tiempo.

Si los puntos fríos no pueden ser determinados por medio de la inspección visual de los datos de temperatura, calcúlense los valores de F_0 partiendo de los datos del termopar. El punto que tenga el valor de F_0 más bajo es designado como el punto más frío.

Desafío del ciclo de esterilización

Es importante conocer en que límites de contaminación microbiana se puede trabajar, y en cuales el proceso de esterilización ya no puede ser utilizado con la misma confiabilidad. Para ello es necesario desafiar el ciclo de esterilización.

El desafío del ciclo se hace en base a la Biovalidación. El procedimiento general para llevar a cabo dicho estudio es:

- Inocular el contenedor seleccionado con un volumen requerido de una suspensión de microorganismos.
- Efectuar controles positivos para verificar que el conteo inicial sea correcto.

- Colocar los contenedores de desafío en el autoclave.
- El modelo de carga deberá ser el mismo que el especificado para el uso en producción normal.
- Realizar el ciclo de esterilización especificado.
- Después de concluir el ciclo de esterilización, recuperar los contenedores de prueba, y de acuerdo a un muestreo pre establecido (si se requiere) separe los destinados al análisis microbiológico y los restantes proceda a su destrucción.

Factor de Esterilización F_0

Es una medida de capacidad de un proceso de esterilización con calor húmedo, para destruir microorganismos. El valor F_0 se calcula integrando tiempo y temperatura en las condiciones de calentamiento del producto, en términos del tiempo equivalente a 121.1°C ó 250°F, usando su valor de Z de 10C ó 18°F.

También podemos definir el Factor de esterilización F_0 como el mínimo tiempo a una temperatura T (121°C) requerida para proporcionar una probabilidad mayor de 1×10^{-6} de supervivencia microbiana. La fórmula para calcular el valor F_0 es:

$$F_0 = D_{121^\circ\text{C}} (\log A - \log B)$$

Donde:

B = Nivel máximo aceptable de posibilidad de supervivencia. Previamente establecido como 1×10^{-6} ó 1 unidad en

1 millón de esporas.

A = Biocarga del producto y de los componentes (determinada durante estudios iniciales).

D = Tiempo (min) a 121°C

BIBLIOGRAFIA

1. **Amsco Esterilizadores**
Instructivo de operación
Información proporcionada por el Proveedor.

2. **A. Arambulo**
Simposium Procesos Farmacéuticos. Validación del Proceso
Instituto Americano de Ingenieros Químicos.
12-2-76. Apuntes ineditos.

3. **L.P. Boll**
Uso de Indicadores biológicos y químicos en Esterilización
con vapor. Chimico Farm. Vol. 119 Núm. 2.
Febrero 1980, p.p. 63-72.

3. **Code of Federal Regulations Good Manufacturing Practices.**
Food and Drug Administration. Part II Friday 29, 1978.
(a) Part 211 Subpart F Sección 211.110 b
(b) Part 211 Subpart F Sección 211.100

5. **P.C. Dravo**
El Control de Calidad mediante muestreo sencillo y doble.
J.C. Statisticas Soc. Núm. 143. Junio 1980.
p.p. 49-67

6. **C.R. Erskine**
Simposium Procesos Farmacéuticos. Validación del Proceso.
Instituto Americano de Ingenieros Químicos.
12-2-76. Apuntes inéditos.

7. **Farmacopes Nacional de los Estados Unidos Mexicanos.**
Cuarta Edición, México 1974.
8. **The Gold Sheet**
Indicadores biológicos. Vol. 16. Núm. 3. Marzo 1982.
9. **J.E. Hoover**
Dispensing of Medication. Eight Edition. Mack Publishing Company. Pensilvania. 1976. p.p. 654.
10. **Importancia de la medición del Voltaje diferencial para la determinación de temperatura mediante el uso de termopares.**
Artículo proporcionado por Ulrich Sander, S.A. México, D.F.
11. **L.D. Kelley**
Simposium Procesos Farmacéuticos. Validación del Proceso. Instituto Americano de Ingenieros Químicos
12-2-76. Apuntes inéditos.
12. **L. Lachman, H.A. Liberman, J.L. Kanig**
The Theory and Practice of Industrial Pharmacy. Second Edition. Lea & Febiger Philadelphia. 1976. p.p. 787
13. **B.T. Loftus**
Simposium Procesos Farmacéuticos. Validación del Proceso. Instituto Americano de Ingenieros Químicos.
12-2-76. Apuntes inéditos.

14. T. Myers
Utilización correcta de los bioindicadores en Procesos de Esterilización. J. Parenteral Drug Assoc. Vol. 3 Núm. 3 Mayo/Junio 1980. p.p. 234-243.
15. E. Oppenheimer
Evaluación de Proceso en la Manufactura de Medicamentos. Drug and Cosmetic Ind. Vol. 127 Núm. 2. Agosto 1980. p.p. 44-113.
16. G. Sykes
Desinfection and Sterilization. Theory and Practice Second Edition. Chapman and Hall Ltd. London, 1965. p.p. 486.
17. S. Tatarsky
Consideraciones sobre la aplicación de técnicas de muestreo estadístico. Sistemas de Calidad. Marzo/Abril 1980. p.p. 33-46.
18. The United States Pharmacopeia XX
The National Formulary XV
United States Pharmacopeial Convention, Inc. Rockville Maryland, U.S.A. 1980.
19. Validation of Steam Sterilization Cycles
Technical Monograph No. 1
Parenteral Drug Association, Inc. 1346 Chestnut Street Philadelphia PA 19107. 1978

20. Validation of Sterilization of Large Volume Parenterals-Current Concepts Pharmaceutical Manufacturers Association, 1100 15th Street NW, Washington, D.C 20005, February, 1979.
21. Información Interna de los Laboratorios Smith Kline and French, S.A.