



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA
DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

CARACTERISTICAS E IMPORTANCIA EN
LA EVALUACION DE FILTROS HEPA

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICO FARMACEUTICO BIOLOGO

P R E S E N T A :

FERNANDO GONZALEZ CONTRERAS

289010



MEXICO, D. F. EXAMENES PROFESIONALES
FACULTAD DE QUIMICA

AÑO 2001



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.

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

Características e Importancia en la Evaluación de
Filtros HEPA

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

FERNANDO GONZÁLEZ CONTRERAS

MÉXICO, D. F.

AÑO 2001

Jurado asignado:

Presidente

Prof. **IBARMEA ÁVILA JOSÉ LUIS**

Vocal

Prof. **GUZMAN MARTÍNEZ GABRIEL RENÉ**

Secretario

Prof. **ALPIZAR RAMOS MARÍA DEL SOCORRO**

1er. Suplente

Prof. **CASTILLO DURÁN ANTONIO**

2do. Suplente

Prof. **BERNARD BERNARD MA. JOSEFA**

Sitio donde se desarrolló el tema: **BRISTOL MYERS SQUIBB DE MÉXICO
PLANTA SAN ANGEL MÉXICO, D.F.**

Asesor del tema: **Q.F.B. JOSÉ EUIB IBARMEA ÁVILA**

Supervisor Técnico: **Q.F.B. PATRICIA AGUILAR RODRÍGUEZ**

Sustentante: **FERNANDO GONZÁLEZ CONTRERAS**

A Dios gracias

Por haberme prestado vida, para llevar a buen
término, este proyecto.

A mis padres, Juvencio y Bertha, por haberme
dado la vida, sus cuidados, su amor y apoyo
para finalizar esta parte importante en mis estudios.

A mis hermanos: Guillermo, Hugo y Andres

A mis hermanas: María Guadalupe y Alejandra.

En memoria de mi tío Adolfo †

Por su cariño y buenos consejos

A mi esposa Yana del Carmen por su gran amor,
comprensión y paciencia.

A mis hijos que los quiero tanto

Abraham Fernando y Jose Pablo.

A mis Maestros y Amigos...

INDICE

I	INTRODUCCION	1
II	IMPORTANCIA DE LA EVALUACION DE UN FILTRO HEPA	2
2.1	¿Qué es un verdadero filtro HEPA?	2
2.2	Aire Limpio y Cuartos Limpios	3
2.2.1	Clase de Areas y Partículas	3
2.2.2	Muestreo anisocínético	3
2.2.3	Calibración	4
2.2.4	Zonc: Limpia y Cuarto Limpio	4
2.2.5	Superficie de entrada	5
2.2.6	Isoaxial	5
2.2.7	Muestreo Isocinético	5
2.2.8	Monitoreo	5
2.2.9	La partícula	5
2.2.10	Descripción U	6
2.2.11	Límite Superior de Confianza UCL (Uper Confidence Limit)	6
2.3	Clases de Partículas y Descripción U	7
2.3.1	Clases de Partículas	7
2.3.2	Medición de Tamaños de Partículas	8
2.3.3	Disposición para definir clases de partículas alternativas	9
2.3.4	Disposición para describir concentraciones de partículas ultra-finas	11
2.3.5	Nomenclatura para las concentraciones de partículas	11
2.3.6	Formato para la descripción U	11
2.4	Verificación y Monitoreo de Partículas	12

2.4.1	Frecuencia	12
2.4.2	Condiciones Ambientales de la Prueba	12
2.4.3	Cuenta de partículas	13
2.4.4	Monitoreo para cuenta de partículas	17
2.4.5	Limitaciones de los métodos para el conteo de partículas	18
2.4.6	Calibración de la Instrumentación	19
2.5	Análisis estadístico	19
2.5.1	Criterios de aceptación	19
2.5.2	Promedio de la concentración de partículas en una localización	19
2.5.3	Media de los promedios	20
2.5.4	Desviación estándar de los promedios	20
2.5.5	Error estándar de la media de los promedios	20
2.5.6	Límite superior de confianza UCL (Upper Confidence Limit)	20
III	TECNOLOGÍA DE CUARTOS LIMPIOS	22
3.1	Calidad del Aire	22
3.1.1	Mecanismos de filtración	22
3.1.2	Eficiencia de la filtración	23
3.2	Filtros HEPA construcción y materiales	24
3.3	Instalación de filtros HEPA	26
3.4	Sistema de sellado en filtros	27
3.5	Pre filtración	29
3.6	Dirección de flujo de Aire	30
3.6.1	Flujo Laminar	31
3.6.2	Áreas de Flujo Convencional (Turbulentas)	33
3.6.3	Áreas de flujo de aire unidireccional	37

3.7	Evaluaciones que se realizan a los filtros HEPA	40
3.7.1	Velocidad de flujo de aire	40
3.7.2	Prueba de integridad de filtros HEPA	40
3.7.3	Conteo de partículas	40
3.7.4	Patrón de flujo de aire	40
3.7.5	Cambios de aire	41
3.7.6	Temperatura y humedad relativa	41
IV	DISEÑO DEL PROTOCOLO Y PROCEDIMIENTOS REQUERIDOS PARA LA	
	EVALUACION DE FILTROS HEPA	42
4.1	Protocolo de Validación de Areas Asépticas	42
4.2	Procedimiento de evaluación de la velocidad de flujo de aire en filtros HEPA de 99.97% de eficiencia o más	46
4.3	Procedimiento para la evaluación de la integridad de filtros HEPA	48
4.4	Procedimiento de cuenta de partículas en filtros HEPA	53
4.5	Procedimiento para la determinación del perfil de flujo de aire	57
4.6	Procedimiento para la evaluación de la presión diferencial en cuartos de áreas asépticas	60
4.7	Procedimiento para la determinación de cambios de aire por hora	62
4.7	Procedimiento para la determinación de temperatura y humedad relativa en áreas asépticas	65
V	CONCLUSIONES	67
VI	BIBLIOGRAFIA	78

I. INTRODUCCION

Dentro de los procedimientos de buenas prácticas de fabricación lo referente a instalaciones, tiene una importancia relevante y bajo este rubro quedan incluidas con especial interés las áreas asépticas.

Al revisar la literatura existente al respecto, se observa que no obstante que el tema de área aséptica ha sido tratado en numerosas ocasiones, no se le ha dado un enfoque a la evaluación de filtros absolutos HEPA para que orienten al usuario en una forma concisa y sistemática al respecto, es decir, una guía útil y práctica para la evaluación de los filtros.

El cuarto aséptico es parte integral del bloque para la preparación de productos parenterales y puede definirse como una zona delimitada por paredes, techo, piso y accesos en la cual se tiene un estricto control sobre la cantidad de material particulado presente, así como también, el control de las condiciones de flujo de aire (sobrepresión), temperatura, humedad relativa y cambios de aire, requeridos para los procesos que en el se llevan a cabo.

La técnica de flujo laminar apareció en los Estados Unidos hacia el año de 1960 y cuyo desarrollo vertiginoso se ha debido a la considerable expansión de las industrias electrónicas y aerospacial; en especial a la imperiosa necesidad de condiciones asépticas adecuadas en los lugares de trabajo.

Al hecho de que la mayor parte de los gérmenes o bacterias del aire, son transportados por diferentes vehiculos polvo, etc., nos permite tener una relación directa con la población microbiológica, esta relación tiene tanto interés para la práctica farmacéutica que cada día se requieren condiciones más estrictas para obtener productos con una mayor calidad.

II. IMPORTANCIA DE LA EVALUACION DE UN FILTRO HEPA

2.1 ¿Qué es un verdadero filtro HEPA?

Existe únicamente un método de limpieza de aire aprobado y requerido en circunstancias donde la vida humana, la salud o la seguridad dependen principalmente de la limpieza de grandes volúmenes de aire. Ese método se utiliza para aislar pacientes (el niño de la burbuja), áreas de cirugía, preparaciones farmacéuticas de inyectables, en cabinas de seguridad biológica para investigación de enfermedades infecciosas, para la contención de partículas radioactivas y en la producción de formas farmacéuticas, para asegurar la pureza de los medicamentos.

HEPA significa (High Efficiency Particulate Arrestance), Captura de Partículas Altamente Eficiente. Un filtro HEPA también es conocido como filtro ABSOLUTO por su eficiencia.

El filtro HEPA se desarrolló durante la Segunda Guerra Mundial por la ("Atomic Energy Commission"), "Comisión de Energía Atómica" y fue diseñado para remover y capturar partículas de polvo radioactivo del aire que pudieran escaparse y presentar un peligro o riesgo de salud para los investigadores.

El filtro HEPA es reconocido por OSHA / EPA como lo último para limpiar el aire y es un método aprobado.

Para que un filtro sea llamado ABSOLUTO o HEPA, éste debe retener completamente todas las partículas del aire, de 0.3 micras y deben tener una

eficiencia del 99.97%. La eficiencia de un filtro HEPA no decrece durante su vida, al contrario, ésta aumenta.

2.2 Aire limpio y cuartos limpios.

En el estudio de un filtro HEPA, es importante, revisar algunas definiciones del FEDERAL STANDARD 209-E, el cual nos provee de lineamientos para el estudio del nivel o clase de partículas en el aire dentro de los diferentes tipos de áreas limpias.

2.2.1 Clase de áreas y partículas.

Son establecidas por la concentración y el tamaño de partículas presentes en ellas. Sin embargo, no hay una caracterización física, química, radiológica o microbiológica de las partículas. Por tal motivo, necesitamos otros métodos que nos permitan monitorear y controlar otras formas de contaminación.

La clase de partículas es definida como el nivel de limpieza que presenta un área o cuarto y está dado por el máximo número de partículas permisibles por m^3 o pie^3 . El nombre de la clase en unidades IS, es tomado de le logaritmo, base 10, del máximo número permisible de partículas de 0.5 micras o mayores por metro cúbico. El nombre de la clase en unidades inglesas es tomado del máximo número permisible de partículas de 0.5 micras y mayores por pie cúbico.

2.2.2 Muestreo anisocinético.

Es la condición de muestreo, en la que la velocidad de la corriente de flujo de aire, difiere de la velocidad de entrada del aire que se muestrea, debido a la inercia de las partículas y puede causar que la concentración de partículas en la muestra difiera de la concentración de partículas en el aire que se está muestreando.

2.2.3 Calibración.

Conjunto de operaciones que establecen, bajo condiciones específicas, la relación entre los valores indicados por un instrumento de medición, o los representados por una medida materializada y los valores conocidos correspondientes de una magnitud medida.

2.2.4 Zona limpia y cuarto limpio.

La zona limpia es un espacio definido en el cual la concentración de partículas es controlada para una clase en especial de partículas.

El cuarto limpio es un área en la cual la concentración de partículas es controlada y puede estar distribuida en una o varias zonas limpias.

El cuarto limpio, como construcción, está completamente terminado y listo para operar, con todos sus servicios funcionales, pero sin equipo o personal operativo dentro de la instalación.

El cuarto limpio en reposo, está completamente terminado, con todos los servicios funcionales y con equipo instalado operable y/o operando, pero sin personal operativo dentro de la instalación.

El cuarto limpio operacional, se encuentra en operación normal, con todos los servicios, equipos y personal desarrollando sus funciones de trabajo normales dentro de la instalación.

El contador de núcleos de condensación, es un instrumento para contar pequeñas partículas aerotransportadas, de aproximadamente 0.01 micras o mas grandes. Estas partículas se detectan ópticamente y se forman por condensación de vapor.

Por otra parte, el contador de partículas discretas, es un instrumento semejante a un contador de partículas óptico o un contador de núcleos de condensación, capaz de dar una respuesta de resolución de partículas individuales.

2.2.5 Superficie de entrada.

Es un plano perpendicular al flujo de aire unidireccional, localizado contra corriente a la región de interés y presenta las mismas dimensiones de la zona limpia perpendicular a la dirección del flujo de aire.

2.2.6 Isoaxial.

Es una condición de muestreo, en la que la dirección del flujo de aire. muestreado, es igual al flujo de aire unidireccional que se está muestreando.

2.2.7 Muestreo Isocinético.

Es la condición de muestreo isoaxial en la que la velocidad del aire que entra en la sonda del equipo de muestreo, es igual a la velocidad del flujo de aire unidireccional de la localización que se está muestreando.

2.2.8 Monitoreo.

Es la determinación rutinaria, utilizando métodos específicos, de un valor o magnitud, en este caso, de la concentración de partículas aerotransportadas, así como otras condiciones relevantes en cuartos limpios y zonas limpias.

El flujo de aire no unidireccional es conocido normalmente como turbulencia o flujo de aire no laminar.

2.2.9 La partícula.

Es un objeto de composición líquida, sólida o ambas, que generalmente mide entre 0.001 y 1000 micras y la concentración de partículas es el número individual de estas por unidad de volumen de aire.

La dimensión lineal máxima aparente de una partícula puede ser obtenida mediante la observación de un plano en el microscopio. También, se puede medir el diámetro equivalente de una partícula utilizando instrumentación automática para detectarla.

El diámetro equivalente, es el diámetro de una esfera de referencia que posee propiedades conocidas y provee la misma respuesta en la sensibilidad del instrumento como la partícula que está siendo medida.

La t de Student = $\frac{[(X \text{ DE MUESTRA}) - (\text{POBLACION X})]}{(\text{STD DE ERROR DE X DE LA MUESTRA})}$

2.2.10 Descripción U.

Es la máxima concentración, permisible, de partículas ultrafinas, por metro cúbico de aire y sirve como un límite superior de confianza de los valores promedio de las localizaciones muestreadas.

Las descripciones U son independientes de las clases de partículas y pueden ser especificadas solas o en conjunto, con una o más clases de partículas.

Las partículas ultrafinas tienen un tamaño de 0.02 micras, aproximadamente y son definidas por la relación de eficiencia en el conteo, contra el tamaño de partícula.

El flujo de aire unidireccional es generalmente paralelo, en una sola dirección y con una velocidad uniforme.

2.2.11 Limite superior de confianza UCL (Upper Confidence Limit).

Es el Limite superior de la media estimada, la cual tiene que ser calculada, en los casos que los porcentajes especificados, estén excedidos en la población media verdadera. Las medias tienen que ser muestreadas de una distribución normal.

La verificación es el procedimiento, para determinar la confiabilidad del aire en un cuarto limpio o zona limpia, para un límite de clase de partículas o una descripción U.

2.3 Clases de partículas y Descripción U.

En la verificación de la limpieza del aire, se utilizan sistemas de clasificación basados en límites específicos, se pueden definir clases estándar de limpieza de aire, cada una tiene concentraciones específicas de partículas y rangos de tamaño específicos. Esto también se hace para definir clases estándar de partículas basadas en los tamaños de éstas y para definir clases alternativas. Además, es una base para describir limpieza de áreas en términos de concentración de partículas ultrafinas (Descripción U). Un sistema de nomenclatura conveniente para describir todas las clases y las descripciones U es el siguiente

2.3.1 Clases de partículas.

Para las clases de áreas limpias mostradas en la siguiente Tabla No. 1, la verificación de la limpieza del aire del área, se realizará midiendo uno o más tamaños de partículas listados también, en la tabla No. 1, u otros tamaños de partículas específicos.

Límites de Clases (Tabla No. 1)											
Clases		0.1 micras		0.2 micras		0.3 micras		0.5 micras		5 micras	
		Volumen		Volumen		Volumen		Volumen		Volumen	
IS	Inglés	m ³	ft ³	M	ft ³	m	ft	m	ft ³	m	ft
M 1		350	9.91	75.7	2.14	30.9	0.875	10.0	0.283		
M 1.5	1	1240	35.0	265	7.50	104	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	1040	30.0	353	10.0		
M 3		35000	991	7570	214	3090	87.5	1000	28.3		
M 3.5	100			26500	750	10400	300	3530	100		
M 4				75700	2140	30900	875	10000	283		
M 4.5	1000							35300	1000	247	7.00
M 5								100000	2830	418	17.5
M 5.5	10000							353000	10000	2470	70.0
M 6								1000000	28300	4180	175
M 6.5	100000							3530000	100000	24700	700
M 7								10000000	283000	41800	1750

2.3.2 Medición de tamaños de partículas

La verificación se realiza, midiendo uno o más tamaños de clases de partículas específicas y deberá ser reportado en el formato descrito en el punto 2.3.5

La clase de partículas encontrada es considerada, si las medidas de sus tamaños y concentraciones específicas, están dentro de los límites establecidos en la Tabla No. 1

La verificación puede ser realizada midiendo tamaños de partículas con las siguientes limitaciones.

2.3.2.1 El tamaño de partículas elegidas debe estar dentro del rango de tamaños indicados, en la Tabla No. 1, para la clase correspondiente

2.3.2.2 La clase de partículas encontrada, es considerada, si la concentración de partículas seleccionadas para cada tamaño alternativo, no excedan el límite estipulado en la Tabla No. 1, para el próximo tamaño de partícula más grande, así como, el determinado por el análisis estadístico del punto 2.5. La verificación debe ser reportada usando el formato descrito en el punto 2.3.5.

2.3.3 Disposición para definir clases de partículas alternativas

Otras clases que se muestran en la Tabla No. 1, por ejemplo: clase M 2.2, M 4.3 y M 6.4 (Clases 5, 600, y 70000), pueden definirse cuando condiciones especiales dicten su uso. El nombre para una clase alternativa, será basado en el límite de la concentración específica para partículas de 0.5 micras y/o más grandes

Los límites de concentración para otros tamaños de partículas, deberán estar en las mismas proporciones, como aquellos de la siguiente clase más limpia, estos límites pueden ser calculados usando la siguiente ecuación, ver Tabla No. 1.

$$\text{Partículas}/\text{m}^3 = 10^M(0.5/d)^{2.5}$$

Donde M es la designación numérica de la clase basada en unidades IS y d es el tamaño de partícula en micras, o

$$\text{Partículas}/\text{ft}^3 = N_c (0.5/d)^{2.5}$$

Donde N_c es la designación numérica de la clase basada en unidades inglesas y d es el tamaño de partículas en micras.

De igual manera, para clases M 1 o Clase 1 los límites de concentración de otros tamaños de partículas diferentes a 0.5 micras deben estar en la misma proporción.

Cuando se expresa en unidades IS, la designación numérica de la clase se deriva del logaritmo base 10 del máximo número aceptable de partículas de 0.5 micras y/o más grandes por metro cúbico de aire.

Cuando se expresan en unidades del sistema inglés, la designación numérica de la clase, se deriva del máximo número aceptable de partículas de 0.5 micras y/o más grandes por pie cúbico de aire.

- (a) Para clases menos limpias que la clase M 4.5 (Clase 1000), la verificación será realizada midiendo cualquier tamaño de partícula del rango de 0.5 micras y/o más grandes.
- (b) Para clases alternativas más limpias que M 4.5 (Clase 1000), pero menos limpias que la clase M 3.5 (Clase 100), la verificación será realizada midiendo uno o más rangos de tamaños de partículas de: 0.2 micras y/o mayores, 0.3 micras y/o mayores y 0.5 micras y/o mayores.
- (c) Para clases alternativas más limpias que M 3.5 (clase 100), la verificación será realizada midiendo uno o más rangos de tamaños de partículas de: 0.1 micras y/o mayores, 0.2 micras y/o mayores, 0.3 micras y/o mayores, y 0.5 micras y/o mayores.

Los límites de clase se dan para cada nombre de la clase. Los límites designan concentraciones específicas de partículas con tamaños igual y/o más grande que el tamaño de partículas mostrado.

Los límites de las clases que muestra la Tabla No. 1 solo se definen para los propósitos de la clasificación y no necesariamente representa la distribución del tamaño a ser encontrado en cualquier situación particular.

2.3.4 Disposición para describir concentraciones de partículas ultra-finas.

Un descriptor de U específico, se usará para expresar la concentración de partículas ultra-finas como se definió en el punto 2.2.10.

Los descriptores U pueden complementar las definiciones de la clase o pueden usarse exclusivamente.

2.3.5 Nomenclatura para las concentraciones de partículas.

La estructura para las clases de partículas quedará expresada usando el siguiente formato.

Clase X {de Y micras}, donde:

X representa la designación numérica de la clase.

Y representa el tamaño o tamaños de partículas, para los que los límites de concentración correspondientes se especifican, como se muestra en el siguiente ejemplo.

Clase M 2.5 {de 0.3 y 0.5 micras} describe aire, con no más de 1060 partículas/m³ de un tamaño de 0.3 micras y más grandes y no más de 353 partículas/m³ de un tamaño de 0.5 micras y más grandes.

Clase 100 {de 0.5 micras} describe aire, con no más de 100 partículas/ft³ de un tamaño de 0.5 micras y más grandes.

2.3.6 Formato para la descripción U.

La descripción U puede usarse, como un suplemento para la especificación de una clase de partículas. Especificar un tamaño de partículas para U es innecesario,

ya que el límite más bajo para partículas ultra-finas es determinado por el equipo usado.

U será expresado usando el formato U(X) donde:

X es la concentración máxima de partículas ultra-finas aceptables.

Ejemplo:

U(20) describe aire con no más de 20 partículas ultrafinas/m³.

Clase M 1.5 (de 0.3 micras). U(2000) describe aire con no más de 106 partículas/m³ de 0.3 micras y más grandes y no más de 2000 partículas ultrafinas/m³.

2.4 Verificación y monitoreo de partículas.

El procedimiento para determinar los límites de clases de partículas y/o la Descripción U, en un cuarto limpio o zona limpia. Será realizado, midiendo la concentración de partículas, tomando en consideración los siguientes puntos.

2.4.1 Frecuencia. Después de la verificación inicial, la prueba se realizará en intervalos periódicos.

2.4.2 Condiciones ambientales de la prueba. La verificación de la limpieza del área debe realizarse, midiendo las concentraciones de partículas bajo condiciones específicas de operación, incluyendo los siguientes aspectos.

2.4.2.1 Estado del cuarto limpio o zona limpia durante la verificación.

Los estados del cuarto limpio o zona limpia, durante la verificación se reportaran como:

- a) Construcción
- b) En reposo
- c) Operacional
- d) Condiciones específicas.

2.4.2.2 Factores ambientales.

Se registrarán las mediciones y observaciones de los factores ambientales aplicables, relacionados con el cuarto limpio durante la verificación.

Tales factores pueden incluir, velocidad de aire, volumen de aire, cambios de aire, presurización del cuarto, composición del volumen de aire, paralelismo del flujo de aire unidireccional, turbulencia de aire, temperatura del área, humedad o punto de rocío y vibración del cuarto.

La presencia de equipo y actividad del personal, se deben tomar en cuenta.

2.4.3 Cuenta de partículas.

La evaluación de la calidad del aire en cuartos limpios se realizará de acuerdo con un método o métodos de cuenta específicos. Un apropiado plan de muestreo debe ser seleccionado de la siguiente forma.

2.4.3.1 Número y localización de muestreo (flujo de aire unidireccional).

Para el flujo de aire unidireccional, las localizaciones de la muestra se espaciarán uniformemente a lo largo de la zona limpia al plano de entrada, exceptuando las partes limitadas por equipo.

El número mínimo de localizaciones de muestreo requeridos para la evaluación de una zona limpia con flujo de aire unidireccional será:

a) Unidades IS: $A/2.32$

Donde A es el área del plano de entrada en m².

Sistema Inglés: $A/25$

Donde A es el área del pleno de entrada en ft².

b) Unidades IS: $Ax64/(10^M)^{0.5}$

Donde A es el área del plano de entrada en m² y M es la designación numérica (IS) de la clase.

Sistema Inglés: $A/(Nc)^{0.5}$

Donde A es el área del plano de entrada en ft² y Nc es la designación numérica, en unidades inglesas.

El número de localizaciones, siempre se redondeará al próximo entero más alto.

2.4.3.2 Número y localizaciones de muestreo (flujo de aire no unidireccional).

Para el flujo de aire no unidireccional, las localizaciones de muestreo se espaciarán, uniformemente, horizontal y verticalmente a lo largo de la zona o cuarto limpios, exceptuando las partes limitadas por equipo.

El número mínimo de localizaciones de la muestra requerida, para la evaluación en una zona limpia, con flujo de aire no unidireccional, debe ser igual a:

a) Unidades IS: $A \times 64 / (10M)^{0.5}$

Donde A es el área del suelo de la zona limpia en m² y M es la designación numérica de la clase.

b) Sistema inglés: $A/(Nc)^{0.5}$

Donde A es el área del suelo de la zona limpia en ft² y Nc es la designación numérica de la clase.

El número de localizaciones, siempre se redondeará al próximo entero más alto.

2.4.3.3 Restricciones sobre localizaciones de la muestra.

Para cualquier área limpia, se hará un muestreo, de no menos de dos localizaciones, éstas se espaciarán uniformemente a lo largo de la zona limpia, excepto cuando este limitada por equipo.

Por lo menos una muestra se tomará, para cada una de las localizaciones seleccionadas. Más de una muestra puede tomarse en cada localización y pueden

tomarse diferentes números de muestras en las diferentes localizaciones, pero se tomarán en cada zona un total, de por lo menos cinco muestras.

Haciendo un muestreo en más localizaciones, que el mínimo requerido, el resultado será de mayor precisión, en la media de los promedios de la localización, cuando se aplique su límite de confianza superior (UCL).

2.4.3.4 Plan de muestreo para clases de partículas (Tabla I)

Cada muestra de aire analizada en cada localización, debe ser de suficiente volumen, de tal manera, que por lo menos se detecten 20 partículas, para cada tamaño específico de partícula.

La siguiente fórmula, proporciona un medio para calcular, el mínimo volumen de aire muestreado, como una función del número de partículas, por volumen de la unidad, listados en cada clase de la Tabla I.

$$\text{Volumen} = 20 \text{ partículas} / (\text{límite de clase (partículas/volumen)} \text{ (de Tabla I)})$$

El volumen de la muestra de aire, no debe ser menos de 0.00283 m³ (0.1 ft³) y los resultados del cálculo del volumen de la muestra no se redondearán hacia abajo.

Ejemplo:

El mínimo volumen, hecho un muestreo, para la clase M 2.5 (de 0.5 micras)
(clase 10 de 0.5 micras)

$$\text{Volumen} = 20 \text{ partículas} / (353 \text{ partículas/m}^3) = 0.0567 \text{ m}^3$$

o

$$\text{Volumen} = 20 \text{ partículas} / (10 \text{ partículas/ft}^3) = 2.00 \text{ ft}^3$$

Un volumen de la muestra, más grande, disminuirá la variación entre los muestreos, pero el volumen, no debe ser tan grande como para dar un muestreo no práctico, con relación al tiempo.

El volumen, de un muestreo, no debe ser idéntico en todas las localizaciones. Sin embargo, la concentración de las partículas, se reportará como partículas, por metro cúbico (pie cúbico) de aire, sin tener en cuenta el volumen de la muestra. El volumen de aire, hecho un muestreo, también se reportará.

Volúmenes muestreados, más grandes que el requerido, darán una mayor precisión, en la media de promedios de las localizaciones y en su límite de confianza superior (UCL).

El tiempo de muestreo, es calculado dividiendo el volumen de la muestra, entre la proporción de flujo de muestra.

2.4.3.5 Plan de muestreo para clase o tamaños de partículas alternativos.

El mínimo volumen de muestra requerido, para verificar o analizar el aire de otros límites de clases de partículas, será el volumen determinado para la próxima clase más limpia, que muestre la Tabla No. I.

El mínimo, volumen de muestra requerido, para la medición de tamaños alternativos de partículas, será el volumen determinado para el próximo tamaño de partícula más grande, que muestre la Tabla No. I.

El tiempo de muestreo, es calculado, dividiendo el volumen de la muestra por la proporción de flujo de muestra.

2.4.3.6 Plan de muestreo para la descripción U.

El volumen de la muestra, requerido para verificar la concentración de partículas ultra-finas, será el volumen de aire, suficiente para permitir descubrir por lo menos 20 partículas específicas de U.

El volumen mínimo, en metros cúbicos, será calculado, dividiendo 20 entre U. Los resultados de esta operación, no se redondearán hacia abajo y en ningún caso el volumen deberá ser menos de 0.00283 m³.

El tiempo de muestreo, es calculado dividiendo el volumen de la muestra entre la proporción del flujo de la muestra.

Un plan secuencial de muestreo, nos permite reducir significativamente el volumen de muestra en cada localización y consecuentemente los tiempos de muestreo.

Un plan de monitoreo, se establecerá, basado en la limpieza del área y el grado en que la contaminación debe controlarse para protección del proceso y del producto. El plan especificará, la frecuencia del monitoreo, las condiciones de operación, el método de cuenta de partículas, el número de localizaciones y el volumen y número de muestras, así como el método que se usó para interpretar los datos.

2.4.4 Monitoreo para conteo de partículas.

Las mediciones de la concentración de partículas, se harán en las localizaciones seleccionadas, a lo largo de la zona limpia o donde los niveles de limpieza son especialmente críticos o donde se han encontrado concentraciones de partículas más altas durante la verificación.

Los métodos y equipo para medir concentraciones de partículas en el aire, serán seleccionados basándose en el tamaño de partícula o partículas específicos y son convenientes para verificar los límites de clases de partículas y/o descripciones U y también pueden usarse para verificar la limpieza del área.

Otros métodos de cuenta de partículas y equipo o combinaciones de métodos y equipo, pueden usarse si se demuestra que tienen exactitud y repetibilidad.

El equipo usado, debe dársele mantenimiento y calibración periódicas, conforme a las instrucciones del fabricante.

La concentración de partículas en el rango de 5 micras o mayores, será determinada mediante el uso del microscopio óptico.

Alternativamente, un contador de partículas discretas (CPD), puede usarse, si los procedimientos describen la toma de muestra, manejo y medición. El CPD se opera solo para contar partículas de 5 micras y más grandes.

La concentración de partículas menores a 5 micras, será determinada, mediante el uso de un CPD. Se reportarán datos de tamaño de partícula, en términos de diámetro equivalente, como se calibro, contra la referencia de partículas estándar.

2.4.5 Limitaciones de los métodos para el conteo de partículas.

Los diferentes contadores de partículas discretas, pueden rendir datos diferentes cuando se hace un muestreo de aire en la misma localización, incluso si el instrumento ha sido calibrado recientemente y debe tenerse cuidado al comparar mediciones de diferentes contadores.

Los contadores de partículas discretas, no deben ser usados para medir concentraciones o tamaños de partículas que excedan los límites establecidos por sus fabricantes.

La clasificación del tamaño y conteo de partículas mediante microscopía óptica, definen el tamaño basándose en una dimensión de longitud, mientras el CPD define el tamaño, sobre la base del diámetro equivalente.

Datos obtenidos de concentración de partículas de ambos métodos, no son equivalentes y por consiguiente no se pueden combinar.

2.4.6 Calibración de la instrumentación.

Todos los instrumentos, se calibran contra las normas de referencia conocidas a intervalos regulares de tiempo, usando procedimientos debidamente aprobados. La calibración incluye, la proporción de flujo de aire y tamaño de partícula.

La calibración, con respecto al tamaño de partículas se llevará a cabo para cada tamaño, determinado en la evaluación.

2.5 Análisis estadístico.

La colección y el análisis estadístico de datos de concentración de partículas, para verificar los límites de limpieza de clases de partículas o la descripción U, se realizará de acuerdo a los siguientes puntos.

2.5.1 Criterios de aceptación.

El aire en un cuarto limpio o zona limpia, estará dentro de los criterios de aceptación, para una clase o una descripción U, si los promedios de las concentraciones de las partículas medidas en cada localización caen por debajo de los límites de la clase o la descripción U. Adicionalmente, si el número total de localizaciones muestreadas, es menor de 10, la media de los promedios, debe estar por debajo del límite de la clase o la descripción U, con un UCL de 95%.

2.5.2 Promedio de la concentración de partículas en una localización.

El promedio de la concentración de partículas A, en una localización, es la suma de las concentraciones de partículas, de una muestra individual C_i , dividido entre el número de muestras tomadas en la localización N, como se muestra en la siguiente ecuación. Si, solo una muestra se toma, ésta es el promedio de la concentración de las partículas.

$$A = (C_1 + C_2 + \dots + C_N / N)$$

2.5.3 Media de los promedios.

La media de los promedios M , es la suma de los promedios individuales A , dividido entre el número de localizaciones L , como se muestra en la siguiente ecuación. Todas las localizaciones son igualmente importantes, sin tener en cuenta el número de muestras tomado.

$$M = (A_1 + A_2 + \dots + A_L / L)$$

2.5.4 Desviación estándar de los promedios.

La desviación estándar de los promedios SD , es la raíz cuadrada de la suma de los cuadrados de diferencias, entre cada uno de los promedios individuales y la media de los promedios $(A_i - M)^2$, divididas entre el número de localizaciones L , menos uno, como se muestra en la siguiente ecuación.

$$SD = \sqrt{\{(A_1 - M)^2 + (A_2 - M)^2 + \dots + (A_L - M)^2 / (L - 1)\}}$$

2.5.5 Error estándar de la media de los promedios.

El error estándar SE , de la media de los promedios M , es determinado, dividiendo la desviación estándar SD , entre la raíz cuadrada del número de localización, como se muestra en la siguiente ecuación.

$$SE = SD / \sqrt{L}$$

2.5.6 Límite superior de confianza UCL (Upper Confidence Limit).

El UCL al 95% de la media de los promedios M , es determinado, sumando a la media, el producto del factor UCL y el estándar de error, como se muestra en la siguiente ecuación.

$$UCL = M + (UCL \text{ Factor} \times SE)$$

TABLA DEL FACTOR UCL PARA EL LIMITE SUPERIOR DE CONFIANZA AL 95%

No. De Localizaciones (L)	2	3	4	5	6	7	8	9	>9
Factor UCL 95%	6.31	2.92	2.35	2.13	2.02	1.94	1.90	1.86	N.A.

III. TECNOLOGÍA DE CUARTOS LIMPIOS.

3.1 Calidad del aire.

Las instalaciones asépticas, demandan suministros de aire, con una muy baja concentración de partículas de 0.5 micras y una ausencia de partículas de 5 micras.

Para Propósitos prácticos, el aire deberá estar libre de algún contaminante viable, microorganismos asociados a algunas partículas inanimadas, las cuales los protegen de la desecación ocasionada por las corrientes de aire. Por lo tanto, hay una ventaja para reducir la concentración de partículas en los rangos de 0.1 a 0.3 micras, dentro de las áreas limpias de instalaciones farmacéuticas.

Aunque, existen técnicas, tales como precipitación electrostática, puede estar involucrada en la limpieza del aire, todo el aire introducido en áreas controladas, debe de ser filtrado con anterioridad.

3.1.1 Mecanismos de filtración.

La filtración, es la suma de efectos de diferentes mecanismos, cuya contribución relativa, difiere significativamente con el tamaño de partículas y la velocidad del aire que pasa a través del medio filtrante

El efecto de Tamiz es un mecanismo de filtración, pero es importante, cuando comparamos las partículas con las que son normalmente atrapadas sobre un pre-filtro de uso rudo.

Son tres los mecanismos, responsables de la retención de pequeñas partículas, sobre las fibras que integran un medio filtrante.

3.1.1.1 Impactación inercial.

Los flujos de aire, orientan las fibras al azar, la inercia de las partículas suspendidas impiden cambios de dirección y estas se incrustan sobre las fibras. Este mecanismo, es el más importante para partículas mayores de una micra y se convierte en el más efectivo, para aumentar la velocidad del flujo de aire que pasa a través del filtro.

3.1.1.2 Retención electrostática.

Las partículas de 0.5 a 1.0 micras, tienen masas pequeñas y pueden ser atrapadas por las fibras del filtro por atracción electrostática.

3.1.1.3 Retención por Difusión.

Las partículas menores de 0.5 micras, son las más retenidas por este mecanismo, mediante el movimiento de Impactación al azar (movimiento Browniano).

Se obtiene alta eficiencia de filtración, en velocidades de flujo de aire bajas.

3.1.2 Eficiencia de la filtración.

Existe una compleja inter-relación entre características del medio filtrante, flujo de aire y tamaño de partícula, y no es posible diseñar un filtro con una eficiencia universal para diferentes usos.

La eficiencia de la filtración, se incrementa cuando la velocidad del flujo de aire, es de un rango de 0.025 a 0.050 m/seg. Por lo tanto, los filtros son diseñados para lograr condiciones de eficiencia, contra un tamaño de partícula específico, cuando se operan, bajo rangos de volumen de flujo, que corresponden a velocidades de filtración óptimas que cruzan el área de filtración, por lo tanto, el % de eficiencia es definido como sigue:

$$\% \text{ Eficiencia} = \frac{[\] \text{ Partículas corriente arriba} - [\] \text{ Partículas corriente abajo}}{[\] \text{ Partículas corriente abajo}} \times 100$$

La medición de la eficiencia de un filtro, tiene particular relevancia, solo cuando se relaciona la prueba de integridad, previniendo cambios de partículas.

Los filtros o prefiltros, son probados por la "American Society of Heating Refrigerating and Air Conditioning Engineers" (ASHRAE), utilizando aerosoles para probar filtros de alta eficiencia, como el Emery 3004 (Polialfaoleofina, PAO).

Para filtros de alta eficiencia, se emplea el concepto de penetración de partículas, esto se define como la colección y representa la fracción que pasa a través del filtro.

3.2 Filtros HEPA construcción y materiales.

La tecnología de filtración de aire hoy en día ha avanzado en la producción comercial de filtros (ULPA) "Ultra Low Particle Air", los cuales son de una eficiencia del 99.99996% contra partículas de 0.12 micras. Pero aún para los propósitos farmacéuticos más estrictos se tienen filtros de una eficiencia de 99.9997% contra partículas de 0.3 micras son adecuados para filtración final en áreas controladas. Esta especificación, podría fallar, solo dentro de límites de desarrollo de control, para filtros clasificados bajo términos de filtros HEPA.

Los filtros HEPA, son empotrados en carcasas rígidas, la media filtrante es generalmente un material no flamable, repelente al agua y de microfibras de vidrio, teniendo cada una un diámetro de aproximadamente 0.1 micras.

Los filtros HEPA convencionales, son plegados para proveer una mayor área de filtración dentro de un espacio compacto, cada pliegue es dividido por un separador acanalado el cual soporta el medio filtrante y mantiene el empaque; este es vital para lograr velocidades de aire uniformes.

Los separadores, son hechos de aluminio o papel Kraff, para dar menor desprendimiento y durabilidad, el medio filtrante y los separadores son unidos a carcasas rígidas con un adhesivo bajo en solvente, para minimizar encogimiento.

Las carcasas pueden ser metálicas, aglomerados, para casi, todas las aplicaciones farmacéuticas, se utilizan carcasas plásticas con aluminio anodizado.

Los aglomerados, fueron usados en el pasado, pero causaron problemas, debido a una superficie inadecuada, que podría desprender partículas.

Se han manufacturado, recientemente filtros nombrados "minipleat". La construcción de estos filtros, esta distribuida completamente con separadores utilizando hebras de fibras de vidrio unidas, las cintas mantienen unido en un empaque regular los pliegues del material del filtro, comparando un panel de un filtro HEPA convencional de equivalentes dimensiones, al minipleat, este último tiene una mayor capacidad de manejar volúmenes de flujo de aire mayores y mantener velocidades más uniformes, así como reducción en el peso.

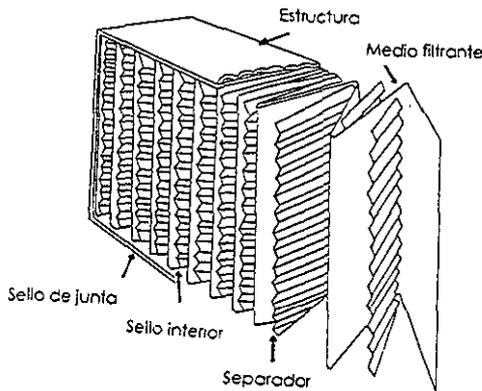


Fig. 1 - Construcción de un filtro HEPA convencional.

Considerando que el embalaje de los filtros convencionales puede ser no muy seguro, de vez en cuando, hay pequeñas rupturas en el medio filtrante, no así en el filtro minipleat, ya que este presenta componentes comparativamente más robustos.

La calidad de estos filtros se refuerza, más allá en algunos diseños, incorporando rejillas metálicas, para proteger ambas caras del filtro de daño mecánico, particularmente durante la instalación.

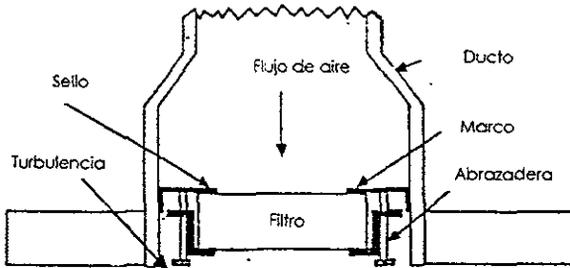
El filtro HEPA minipleat ha evolucionado en un componente sumamente confiable y ha proporcionado consistentemente un alto desempeño y durabilidad.

3.3 Instalación de filtros HEPA.

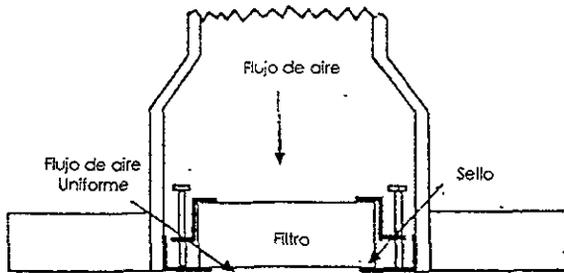
Como un principio general, todos los filtros terminales dentro de áreas críticas, en el ducto donde viene el flujo de aire, deben tener una compuerta para balancear la velocidad del aire. El sistema de aire "corriente abajo" deberá presentar un difusor si es requerido o simplemente una rejilla protectora, obviamente el marco del filtro deberá ensamblarse con el ducto y estar sellados perfectamente.

Cualquier oportunidad para movimiento, entre el ducto y el marco del filtro, permitirá el desarrollo de fugas bajo efectos de vibración o tensión térmica.

La conexión entre el marco del filtro y el pleno de la cámara o conducto que los alimentan son particularmente críticas ya que una deficiente instalación puede dar por resultado la introducción de aire contaminado con grandes concentraciones de partículas que pasan a través de pequeñas fisuras de la conexión del marco del filtro y el pleno del conducto, ayudando esto a la generación de altas presiones dentro del ducto.



DISEÑO DEFICIENTE - BASE FRONTAL



BUEN DISEÑO - BASE TRASERA

Fig. II - Instalación de un filtro HEPA.

3.4 Sistema de sellado en filtros.

Considerando, que los conductos y los marcos, son instalaciones permanentes, es necesario reemplazar los filtros terminales periódicamente, cuando la vida del filtro es relativamente limitada.

La unión entre la carcasa del filtro y el marco, normalmente es sellada, mediante un material compresible y en la mayoría de los problemas asociados al suministro de aire de mala calidad, es debido a este empaque.

Generalmente, se hacen empaques de espuma de neopreno de celdas cerradas y materiales alternativos como poliuretano, pero no parecen ofrecer alguna ventaja significativa.

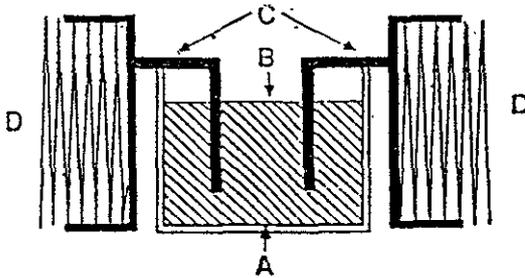
El marco montado, puede tomar una variedad de formas, incluso, una cara llana simple y el chafán del sello es empujado hacia fuera de los perfiles de aluminio del filtro. Los sellos pueden lograr su función utilizando cualquiera de estas variantes, siempre y cuando los marcos sean verdaderamente llanos, lisos y libres de imperfecciones, como tierra y pulido de soldaduras.

Los empaques de los filtros están comprimidos contra sus marcos mediante sujetadores (clamps), de los marcos de los filtros distribuidos uniformemente, para prevenir distorsión local del marco o el panel de filtros.

En algunos casos para aplicar fuerza sujetando el marco mediante resortes que mantienen una presión igual y consistente durante toda la vida de servicio del filtro o panel de filtros.

Un desarrollo reciente, ofrece una alternativa atractiva a los empaques convencionales, es el sistema gel-seal. El marco del filtro es fabricado en acero inoxidable y a la expulsión del aluminio de la carcasa del filtro forma un filo integro localizado dentro del cause del filtro de acero.

El ensamble sella herméticamente mediante una gel químicamente inerte, no volátil, alrededor de la que fluye y sella a cada uno de los componentes.



- A: Canal del marco de acero inoxidable
- B: Gel Tixotrópico
- C: Estructura de aluminio extruido del filtro
- D: Media filtrante

Fig. III – Sistema Gel-seal para instalación de filtros.

Esta técnica, se ajusta particularmente a la instalación de panels de filtros horizontales, así como también, a la construcción modular de áreas con flujo vertical.

3.5 Pre filtración.

Cualquier filtro sujeto a una carga de partículas se saturará. Para poder extender la vida útil de los filtros terminales, que son los más costosos y minimizar el tiempo fuera de uso de un cuarto limpio, se usan pre filtros para quitar la contaminación gruesa del aire no tratado.

Una instalación de filtros metálicos, podría usarse para retener partículas de 15 micras y estas se usan indefinidamente en la instalación.

Existen filtros bolsa que retienen partículas de alrededor de 4 micras y protegen a los filtros terminales antes de que el aire se alimente a éstos.

El rango de filtración, depende en gran parte del reto con aerosoles y la vida del filtro varía con factores ambientales como lluvia, contaminación, localización de las instalaciones, etc.

Como guía general, los filtros intermedios o prefiltros, se reemplazan normalmente cada 3 meses, tomando como base el medio ambiente urbano, donde se encuentra la instalación.

Es importante asegurarse, que otros componentes del sistema de aire estén protegidos por filtración contra corriente, para prevenir el intercambio de calor en el punto central de la instalación de suministro de aire.

En un sistema bien diseñado de filtros HEPA deben ser reemplazados por lo menos cada dos años, aunque las altas recirculaciones del aire, pueden extender el intervalo de servicio o reemplazo considerablemente.

Para mantener el buen desempeño del suministro de aire a lo largo del servicio de vida de los filtros HEPA terminales, es necesario compensar el taponamiento del filtro aumentando progresivamente el diferencial de presión en los filtros.

En un sistema moderno, la compensación automática del ventilador se logra electrónicamente usando una placa que genera una constante resistencia a la fuente del aire.

3.6 Dirección de Flujo de Aire.

La tecnología de un cuarto o área aséptica, está fundada en utilizar aire filtrado, para proveer productos libres de la contaminación que se lleva a través del

aire, eliminando partículas en la zona de trabajo. Ya que la protección del flujo de aire del área de trabajo puede ser quebrantada fácilmente, un objetivo secundario del diseño del área aséptica es controlar las partículas que se encuentran alrededor, para proteger la zona de trabajo, logrando los niveles más bajos permisibles.

Continuamente el personal vierte un gran número de partículas, la concentración de éstas, dentro de un área aséptica, representará un equilibrio dinámico entre la cantidad que se genera o desprende en el interior y la cantidad que es purgada del área aséptica.

3.6.1 Flujo Laminar (flujo unidireccional).

El flujo de aire laminar, es definido como el movimiento del aire dentro de los límites de la velocidad esencial uniforme y a través de las líneas de flujo paralelas. En la práctica un pequeño aumento de la corriente de aire ocurre y el término flujo unidireccional es una descripción más exacta.

Para realizar una eficiente y óptima remoción de partículas que se encuentran alrededor de una manipulación aséptica, la velocidad de aire debe ser generalmente entre 0.45 m/seg. ($\pm 20\%$).

En torno a esta velocidad crítica, las partículas menores a 15 micras son transportadas en suspensión por el flujo de aire y pueden servir de guía para que la contaminación vertida por un operario sea sistemáticamente vaciada fuera del área de trabajo.

Debajo de esta velocidad, el rango de partículas eliminado es inaceptablemente lento y los movimientos de los operadores producirán turbulencias que se opondrán al flujo de aire, induciendo rápidamente la contaminación hacia el producto. Si la velocidad de flujo de aire se incrementa por arriba de 0.6 m/seg. la turbulencia empezara a desarrollarse y el levantamiento sistemático controlado de la

contaminación, será reemplazado por una mezcla aleatoria de aire filtrado y aire contaminado por el operario.

Cualquier obstrucción física para el flujo de aire creará turbulencia en el flujo bajo, el cual puede comprometer la protección del producto. Sin embargo, en la velocidad de flujo de aire laminar hay una pequeña tendencia para desarrollar un flujo turbulento, flujo arriba, de una obstrucción y el flujo unidireccional. es normalmente restablecido, flujo abajo, a una distancia equivalente de 3 – 6 veces la dimensión de la obstrucción al cruce del flujo.

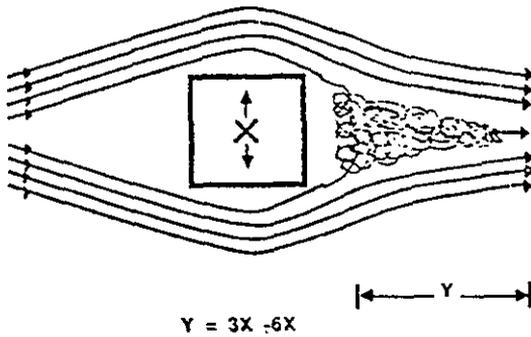
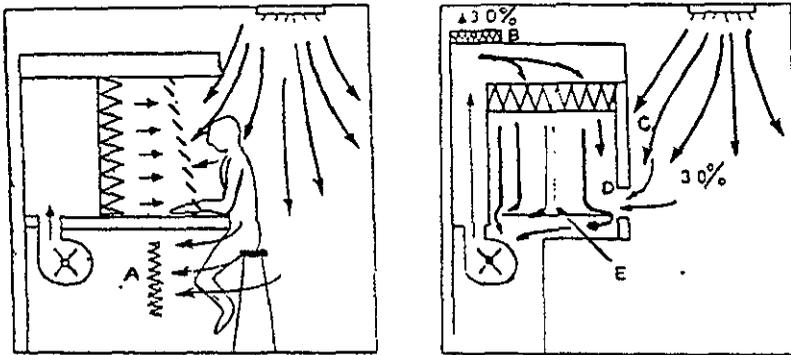


Fig. - IV Modelo del efecto de obstrucción sobre el flujo de aire.

La selección de una corriente o flujo protectora, horizontal o vertical depende de la disposición relativa de productos, el equipo, personal y por supuesto la interacción natural del proceso de producción.

3.6.2 Areas de Flujo Convencional (Turbulentos)

En un área aséptica convencional: la protección localizada para operaciones críticas, está suministrada por cabinas o estaciones de trabajo de "flujo de aire laminar" (FAL). Estos equipos presentan pre-filtración, ventiladores y una cámara conteniendo un filtro HEPA el cual puede ser instalado vertical u horizontalmente como se muestra en la figura V



A: Prefiltro

D: Control de entrada de aire

B: Filtro HEPA extractor

E: Mesa de trabajo

C: Panel de Cristal

Fig. - V Estaciones de trabajo de FAL Vertical y Horizontal

El trabajo crítico, se realiza directamente delante o bajo el filtro HEPA, dentro de una envoltura de flujo de aire controlado. Para asegurar que las velocidades son uniformes, dentro del rango laminar de toda el área del panel de filtros HEPA, las estaciones de trabajo debe poseer una cámara profunda con difusores, para mantener la distribución de presión detrás de los filtros HEPA.

Aunque los efectos de la viscosidad reducen en mucho la velocidad de aire en la superficie de trabajo y otras superficies, el flujo de aire, sobre el área de trabajo en una estación de trabajo horizontal debe ser regular y uniforme. En contraste las cabinas con bajo flujo de aire, inevitablemente exhiben algunas distorsiones, en el flujo de aire, por encima de la superficie de trabajo.

Para minimizar la turbulencia, algunos diseños de cabina incorporan superficies de filtración o superficies de trabajo, muy perforados, sin embargo esta construcción es notoriamente muy difícil de limpiar y los diseños más comunes presentan un dispositivo periférico ranurado para un patrón de flujo de aire satisfactorio.

Como las estaciones de trabajo, son construidas estrictamente, las áreas asépticas pueden ser provistas con módulos FAL para protección local de equipo, tal es el caso de líneas de llenado. Varios estudios han demostrado (30), que la protección de productos será seriamente perjudicada, si el flujo de aire de los módulos no es forzado, ya que la velocidad declinará rápidamente al mismo tiempo que los movimientos del aire fuera de la cara del filtro y restos de partículas pueden ser incorporadas dentro del área crítica.

Como una alternativa, para paneles de lados rígidos, los módulos de bajo flujo, pueden emplear un laminado plástico flexible o incluso cortinas que limitan y contienen la alta velocidad de flujo de aire laminar sobre el área de trabajo.

La elección correcta entre una protección de flujo de aire laminar vertical u horizontal, debe ser hecha para asegurar que la corriente del flujo de aire no se distorsione y no se contaminen puntos críticos, tales como cuellos abiertos de los viales, mientras que las manos de los operadores deben estar idealmente bajo la corriente del aire o a un lado de los componentes vulnerables. Así cuando hay obstrucciones significativas del flujo de aire sobre posiciones críticas de un proceso, como en muchas operaciones de llenado, el flujo horizontal es generalmente ventajoso para minimizar turbulencias en el punto de llenado. En procesos en los cuales los movimientos del operador son predominantes, un pleno vertical, es probablemente mejor que un horizontal.

A la inversa, obstrucciones inevitables a lo largo de un proceso crítico o movimientos del operador, puede ser útil el uso de un flujo bajo de aire, para minimizar la fractura del flujo de aire.

A pesar de la dirección de flujo de aire, movimientos mecánicos o humanos dentro del área de trabajo, deben hacerse despacio, tanto como sea posible, para minimizar la generación de turbulencia o remolinos.

Para todos los trabajos críticos, las estaciones de trabajo FAL, deben ser instaladas dentro de un área aséptica, para reducir la demanda de protección de flujo de aire que afrontan.

Las áreas asépticas convencionales, están provistas con una adecuada filtración de aire, utilizando filtros HEPA, los cuales nos ayudan a limpiar partículas del cuarto mediante un proceso de dilución. El aire que ocupa el volumen del cuarto debería, por tanto, ser completamente mezclado en el aire introducido, induciendo condiciones turbulentas por todo el cuarto. Por esta razón, el aire normalmente suministrado, entra al cuarto convencional, a una velocidad

relativamente alta, a través de entradas en la pared o techo, las cuales son, comparativamente pocas en número y pequeñas en tamaño.

A pesar del uso de difusores, para mejorar la distribución lateral de suministro de aire, es imposible prevenir la existencia de zonas de estancamiento, resultando ineficiente la purga de partículas.

Para minimizar esta diferencia, es importante que las posiciones de entrada y salida de suministro de aire, optimicen el potencial de lavado del aire, para eliminar cortos circuitos de aire, no extraído, hacia las salidas.

En el caso más simple, un techo de entrada, para un cuarto aséptico pequeño, podría normalmente estar situado diagonalmente opuesto a un bajo nivel de salida.

En grandes instalaciones, es importante que se tengan múltiples entradas, alimentadas comúnmente por medio de una unidad manejadora de aire, pueden ser balanceadas individualmente las entradas del aire mediante dampers.

Para conseguir un satisfactorio equilibrio, en bajos niveles de partículas, el aire puede ser suministrado, en un rango suficiente, para mantener una adecuada dilución de restos, desprendidos dentro del cuarto.

La limpieza del aire, desarrollada en un cuarto limpio, es normalmente expresada como cambios de aire por hora y su curso solamente puede ser calculado sobre una base teórica ya que el aire actúa en algunos puntos, dentro de un flujo turbulento y muchas veces estos cambios no se dan, por que existe un estancamiento del aire.

Se requieren como mínimo 20 cambios de aire por hora, dentro de un área Clase I (3) y muchas áreas fueron construidas bajo este criterio.

3.6.3 Areas de flujo de aire unidireccional.

Las áreas de flujo de aire unidireccional (AFU), son ampliamente usadas en la industria y tienen un mayor aprovechamiento para el control de la contaminación. Logran una reducción de la contaminación mediante un mecanismo de dilución, eliminando partículas por una acción de desplazamiento más consistente y predecible.

El objetivo del diseño es mover aire filtrado uniformemente a través del volumen entero del cuarto o área, para que el aire disperse continuamente partículas suspendidas.

Para lograr este efecto se debe tener un banco completo de filtros HEPA, tapizando por completo las paredes o el techo y con esto producir un flujo de aire horizontal o vertical en los cuartos, como muestra la figura VI.

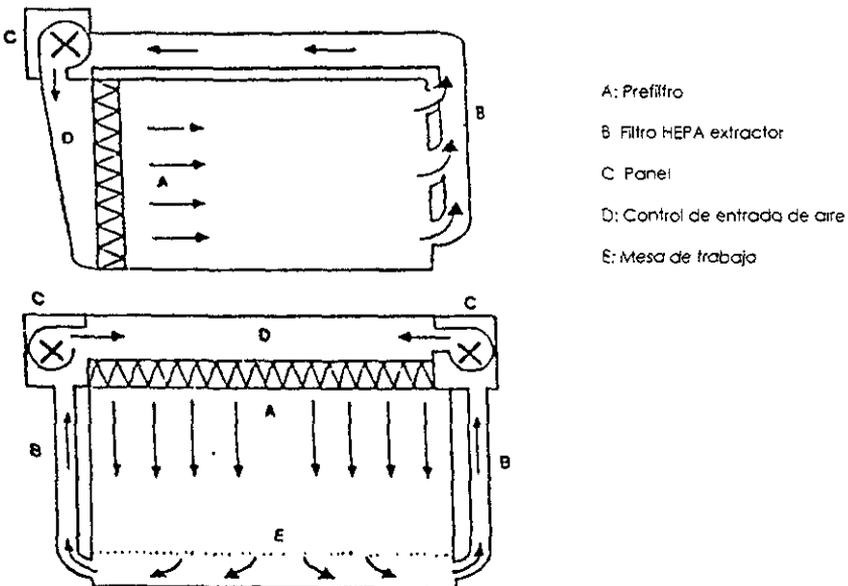


Fig. VI - Representación esquemática de un cuarto con flujo unidireccional.

Cuando el área de trabajo está, frente o por debajo del banco de filtros, los procedimientos asépticos son muy importantes, al igual que en las estaciones de flujo laminar.

La ventaja fundamental de los cuartos con flujo de aire unidireccional, radica en la rápida y consistente remoción de restos derivados de la operación del área, dando por resultado un equilibrio en bajas concentraciones de partículas, producidas por la actividad humana. El desafío del ambiente local es muy reducido, estable y predecible en flujo de aire, si el diseño de las instalaciones, la organización y ordenamiento del equipo y personal dentro del área son optimizados.

El flujo de aire, es esencialmente uniforme por todo el interior del cuarto, áreas con estancamiento de aire y turbulencias son eliminadas y se provee limpieza al cuarto y protección al producto.

La selección de un flujo de aire horizontal o vertical, depende de los criterios generales para áreas limpias convencionales, pero las posiciones de trabajo del personal, dentro de estas áreas asume gran importancia.

Para instalaciones asépticas grandes, con puntos críticos, distribuidos por todo el piso, flujos bajos, pueden ser solamente opciones realistas, no obstante la organización debe proveer un buen control ambiental en cualquier punto dentro del área aséptica, a pesar de que se encuentre personal trabajando.

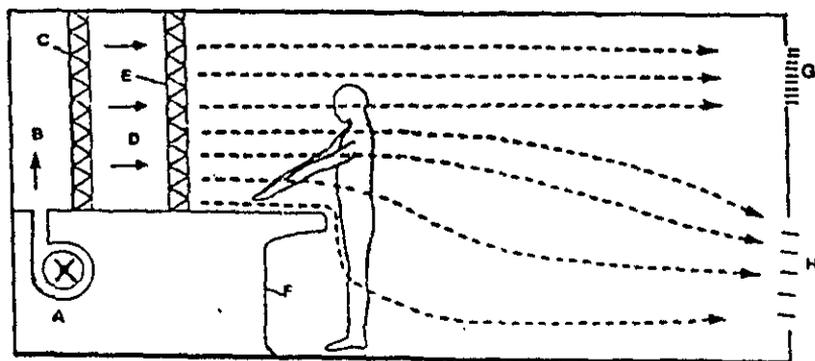
En áreas asépticas con flujo vertical se requiere un alto volumen de flujo de aire, por tal motivo, estas son muy costosas para construir y operar, también, se puede encontrar dificultades significativas para mantener un aceptable flujo uniforme, en lo alto del área de trabajo diseñada.

Si los conductos de salida están alrededor de la periferia de un cuarto con bajo flujo, éste puede ser distorsionado. Perforaciones en el piso pueden proveer óptima regulación del flujo, pero se tiene dificultad para construir y limpiar.

Varios estudios (30) (9), han demostrado que este tipo de flujo en áreas asépticas no es confiable, pudiendo contaminarse puntos críticos y productos con el movimiento del personal. Para pequeñas instalaciones, el flujo horizontal provee excepcional protección al producto, evitando la contaminación entre éste y los operadores que se encuentran trabajando frente a la pared del filtro.

Sin embargo, algunas partículas que se desprenden del personal, hace tomar conciencia de la contaminación del aire, y un mal trabajo aséptico. La distorsión del flujo de aire, no es un problema significativo, sino que las salidas en las paredes no son del tamaño adecuado y no se está distribuyendo bien el aire.

En contraste, para cuartos de bajo flujo, con parcial flujo horizontal, como se muestra en la figura VII, puede proveer un excelente control de la contaminación, pero es muy costosa.



A: Ventilador B: Plenum (Turbulento) C: Primer banco de filtros HEPA D: Plenum (Flujo uniforme)
 E: Segundo banco de filtros HEPA F: Salida de servicio G: Rejilla de salida de aire
 H: Rejillas de control de presión

Fig. VII – Esquema de cuarto con un parcial flujo horizontal.

3.7 Evaluaciones que se realizan a los Filtrros HEPA.

Una vez que hemos visto la importancia que juegan los filtros HEPA en el sistema de aire de las áreas asépticas, mencionaremos brevemente las pruebas que éstos requieren.

3.7.1 Velocidad de flujo de aire.

Esta prueba se realiza para demostrar que el sistema es capaz de proveer suficiente volumen de aire manteniendo una velocidad constante dentro del rango de 0.36 a 0.56 m/s y no sobrepasando la caída de presión estipulada por el fabricante del filtro HEPA.

3.7.2 Prueba de integridad de filtros HEPA.

Esta prueba nos permite asegurarnos, que el filtro HEPA no fue dañado durante la instalación o manejo del mismo, evaluando posibles fugas.

3.7.3 Conteo de partículas.

Esta prueba establece la cantidad y tamaño de partículas que pasan a través del filtro, debiendo ser no más de 100 partículas de 0.5 micras de diámetro o mayores. Esto aplica, para áreas asépticas, donde se manufacturan productos estériles, principalmente.

3.7.4 Patrón de flujo de aire.

Esta prueba se realiza, tanto en los filtros como en el área aséptica en general. En los filtros, se demuestra la laminaridad y el flujo de aire, mientras que en los cuartos del área aséptica se demuestra que existe una cascada de presión, esto es, una presión positiva del cuarto crítico hacia el exterior.

3.7.5 Cambios de aire.

Este cálculo indica, el número de veces que el volumen de aire de un cuarto es removido en un periodo establecido de tiempo.

3.7.6 Temperatura y humedad relativa.

Estas evaluaciones, se realizan, para demostrar que la manejadora del sistema de aire tiene la capacidad de controlar estas variables.

IV. DISEÑO DEL PROTOCOLO Y PROCEDIMIENTOS REQUERIDOS PARA LA EVALUACION DE FILTROS HEPA.

4.1 Protocolo de Validación del Sistema de Aire en Areas Asépticas.

4.1.1 Objetivo

Garantizar el desempeño sistemático y continuo del sistema de aire del área aséptica y que cumpla con los parámetros establecidos para la misma.

Documentar cada uno de los parámetros evaluados en el área aséptica.

4.1.2 Alcance

Gerencia de Validación.

Gerencia de Producción.

Gerencia de Mantenimiento.

Gerencia de Control de Calidad.

Jefatura de Control Analítico.

Supervisión de Validación.

4.1.3 Responsabilidades

Será responsabilidad de la Gerencia de Validación en coordinación con la Gerencia de Producción, Mantenimiento y Control de Calidad, programar la validación del área aséptica en estudio.

Será responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento garantizar que los servicios, instalaciones y equipos del sistema de aire mantengan constantemente las condiciones de operación requeridos para efectuar la validación y proporcionar a la Gerencia de Validación toda la información técnica, copia de los planos de

las áreas asépticas y diagrama de las unidades manejadoras de aire y ductería involucrada en toda el área a evaluar.

Será responsabilidad de la Gerencia de Validación efectuar las evaluaciones correspondientes establecidas en este protocolo.

Será responsabilidad de la Gerencia de Control de Calidad, realizar todas las pruebas de microbiología necesarias para asegurar que las condiciones evaluadas en la validación, cumplen satisfactoriamente con las normas establecidas para la clase de área en estudio.

Será responsabilidad de la Gerencia de Validación emitir y en su caso aprobar el reporte de validación del área.

Será responsabilidad de las Gerencias de Control de Calidad y Producción verificar y en su caso aprobar el reporte de la validación llevada a cabo.

4.1.4 Frecuencia.

Se realizará nuevamente la validación del área cuando se cambien filtros, cuando se tengan problemas en el área y/o se modifique algún parámetro crítico en el sistema.

También se evaluarán nuevamente los filtros, cuando la caída de presión este por arriba, de la establecida en la primera validación.

4.1.5 Equipo.

Higro-termoanemometro.

Contador de partículas electrónico o equivalente.

Fotómetro para aerosol ATI modelo TDA-2G o equivalente.

Generador de aerosol TDA-5B o equivalente.

Emery 3004 (Polialfaoleofina PAO).

Nitrógeno y Tetracloruro de titanio.

4.1.6 Precauciones.

Todos los instrumentos de medición utilizados en la validación deberán estar calibrados y amparados por un certificado de dicha calibración o una etiqueta que compruebe ésta y que estén autorizadas por la Dirección General de Normas (DGN).

4.1.7 Procedimiento.

Evaluación de la velocidad de flujo de aire.

Evaluación de la presión diferencial.

Determinación del patrón de flujo de aire, incluyendo los módulos de flujo laminar que se encuentren en estas áreas.

Determinación de la humedad relativa.

Determinación de temperatura.

Determinación del número de cambios de aire por hora en cada uno de los cuartos del área aséptica.

4.1.8 Criterios de Aceptación.

DETERMINACION DE:	LIMITE DE ACEPTACION	OPTIMO
TEMPERATURA	19°C - 25°C	22°C
HUMEDAD RELATIVA	40% - 55%	45%
VELOCIDAD DE FLUJO DE AIRE	0.36m/s - 0.56m/s	0.50m/s
PRESION DIFERENCIAL	0.1pulg H ₂ O - 0.05pulg H ₂ O	0.05pulg H ₂ O
INTEGRIDAD FILTROS HEPA CLASE 100	EFICIENCIA 99.99 %	≤0.01% PENETRACION
CONTEO DE PARTICULAS	≤25 PARTICULAS DE 0.5	LIMITES DE FED. STD. 209 E
CAMBIOS DE AIRE POR HORA	20 - 60 C.A.H.	45 C.A.H.

4.1.9 Referencias.

Federal Standard No. 209E. 1992.

Procedural standards for certified testing of cleanrooms

(National Environmental Balancing Bureau) NEBB, 1988, First Edition.

Environmental Requirements for Clean Rooms, Lee John Y.

Biopharm, July/August 1988.

4.2 Procedimiento de evaluación de la velocidad de flujo de aire en filtros HEPA de 99.97 % de eficiencia o más.

4.2.1 Objetivo.

Demostrar que la velocidad de inyección o flujo de aire en los filtros HEPA de 99.97 % o más cumple con el criterio de aceptación establecido para sistemas de aire en áreas asépticas.

4.2.2 Alcance.

Este procedimiento aplica a todos los filtros terminales HEPA del 99.97 % de eficiencia o más instalados en cualquier área aséptica.

4.2.3 Responsabilidades.

Será responsabilidad del Departamento usuario de los filtros a evaluar y del Departamento de Validación, programar la validación de éstos.

Será responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento realizar reparaciones y/o mantenimiento necesario de los filtros HEPA para asegurar que la velocidad establecida se mantenga.

Es responsabilidad del Departamento de Validación evaluar la velocidad de inyección de aire.

Será responsabilidad de la gerencia de Validación revisar y en su caso aprobar el reporte de validación.

4.2.4 Procedimiento.

Material y equipo: Higrotermoanemómetro ó equivalente.

Mida la velocidad de flujo de aire en un plano paralelo al filtro HEPA a una distancia de 5 centímetros de distancia de la media filtrante, durante un intervalo de 2 ó 3 minutos.

Realice un recorrido a lo largo de toda la media filtrante y tome 11 lecturas si el filtro es mayor a 24 pulgadas y 5 lecturas si es menor.

Haga un diagrama de cada filtro HEPA evaluado donde se indique el lugar en que se midió la velocidad de flujo de aire y el valor encontrado.

Anote en el formato correspondiente todas las velocidades y calcule la velocidad promedio de cada filtro HEPA.

Las mediciones en cada punto deberán ser realizadas por un mínimo de 15 segundos para permitir la estabilidad de la lectura.

4.2.5 Criterios de aceptación.

La velocidad media de cada filtro HEPA de 99.97 % de eficiencia o más, deberá ser como mínimo 0.36 m/s y como máxima la que no sobrepase la caída de presión indicada en el filtro, además de cumplir con los parámetros indicados por el proveedor.

La velocidad promedio debe ser tal que sea suficiente para dar el número de cambios de aire por hora requeridos, para el área en estudio.

4.2.6 Frecuencia.

El reporte de validación para cada área en donde se encuentren filtros HEPA será permanente, sin embargo, el monitoreo se realizará por lo menos 3 veces al mes, o cuando se modifique alguno de los parámetros críticos en el sistema.

4.2.7 Referencia.

Federal Standard No. 20^o E. 1992.

4.3 Procedimiento para la evaluación de la integridad de filtros HEPA.

4.3.1 Objetivo.

Asegurar la integridad de los filtros HEPA ya instalados mediante la prueba de penetración de aerosol.

Asegurar que no existan fugas en el marco de la caja del filtro.

4.3.2 Alcance.

Departamento de Control de Calidad.

Departamento de Validación.

4.3.3 Responsabilidades.

Es responsabilidad del Departamento de Validación llevar a cabo la prueba de integridad a los filtros HEPA.

Es responsabilidad del Departamento de Mantenimiento y/o Ingeniería tener correctamente instalados los filtros HEPA a evaluar.

Es responsabilidad del Departamento de Mantenimiento y/o Ingeniería hacer las reparaciones necesarias cuando un filtro HEPA presente fugas.

4.3.4 Generalidades.

La prueba de integridad, aplica a todos los filtros HEPA instalados en módulos de flujo laminar o en áreas asépticas. Esta prueba se realizará una vez que se instale el filtro y posteriormente una vez por año.

4.3.5 Procedimiento.

Equipo: Fotómetro para aerosol ATI modelo TDA-2G o equivalente.
Generador de aerosol TDA-5B o equivalente, Emery 3004 (Polialfaoleofina, PAO),
Nitrógeno (NO USAR AIRE COMPRIMIDO), manguera látex.

Antes de iniciar la prueba, inspeccione la unidad filtrante detalladamente, para ver si no hay daños visibles sobre la media filtrante y el marco del filtro. Registre todas las anomalías.

Destornille la tapa de la parte superior del generador y llene con Emery 3004 hasta que el indicador de nivel registre $\frac{3}{4}$ del tanque. Es importante no sobrellenar el recipiente, de lo contrario, no funcionará.

Conecte una manguera de $\frac{1}{4}$ de pulgada de diámetro de la parte frontal del generador, al regulador del tanque ni nitrógeno.

Conecte a la corriente eléctrica y accione el switch de power en la posición ON.

Ajuste el set point de la temperatura a 270°C cuando el controlador de temperatura alcance el set point (aproximadamente 20 minutos), la unidad está listo para producir aerosol.

Ajuste el regulador de presión del gas nitrógeno entre 40 y 50 psi y mantenga esta presión. Al aumentar o disminuir la presión del gas, afecta la salida de aerosol y su operación.

Conecte el sensor del fotómetro a la parte frontal de la unidad y el cable de corriente a la parte derecha inferior del panel de atrás.

Conectar una manguera de no más de 2.5 m de longitud de la salida del generador de aerosol al puerto "up stream" del filtro. Conectar otra manguera del puerto del filtro "down stream" al puerto del fotómetro del aerosol "up stream". El fotómetro deberá colocarse en una superficie firme y plana.

Conecte una manguera de no más de 2.5 m de longitud de la salida del generador de aerosol al puerto "up stream" del filtro. Conectar otra manguera del

puerto del filtro "down stream" al puerto del fotómetro de aerosol "up stream"- El fotómetro deberá colocarse en una superficie firme y plana.

Verifique que la válvula selectora está en la posición "CLEAR". Encienda el equipo colocando el botón en la posición ON. Verifique que en el display el % "LEAKAGE" escanea durante 20 segundos y luego se ilumina completamente mostrando 8.8.8.8.8. con una gráfica de barras.

Presione "ENTER" y luego "REF", con lo cual el display marcará "P1" después del valor numérico de referencia 100.0 y presione "ENTER" nuevamente, con lo cual el sistema iniciará su ajuste interno para el nuevo valor indicado en la gráfica de barras de izquierda a derecha hasta completar la función.

Cuando se ha terminado, el LED rojo en la función "O" empezará a parpadear. Entonces presione "ENTER" para poner en cero al instrumento, función que al terminar hace sonar una alarma.

Active el generador inyectando aerosol de Emery 3004 al conducto del filtro "up stream". Para esto, se presuriza el generador manteniendo este en el rango de 40 a 50 psi. Verifique que no haya fugas de Emery 3004 en el generador, de ser proceda a sellar bien el generador.

Ponga el control de flujo en posición "up stream". El display indicará la concentración real en ug/l de aire muestreado. Presione "ENTER", función 100 y observe que el LED rojo inicia a parpadear. Presione "ENTER" nuevamente para establecer la línea base de 100 %. Esto establece el límite superior de medición y da lectura directa. El display de % "LEAKAGE" mostrará 100 y sonará una alarma. Esta operación puede tardar unos minutos.

Una vez terminado lo anterior, se observará que la función "0" comenzará a parpadear. Ponga entonces el control de flujo en posición "CLEAR" y presione

"ENTER". El equipo establecerá entonces la línea base de 0 %. El display de % "LEAKAGE" mostrará 0000 y sonará una alarma. El equipo se encuentra calibrado y listo para realizar las lecturas.

Para iniciar la prueba, coloque el selector del fotómetro de aerosol en la posición "down stream" para permitir el muestreo.

Con el sensor del fotómetro, rastree el filtro en la media filtrante, en la unión entre el filtro y el interior del marco del filtro, entre la armadura alrededor del marco y el marco que sostiene al filtro a una velocidad transversal de no más de 5 cm/seg. Y aproximadamente 2.54 cm de la superficie del filtro.

Cuando se descubran fugas, se debe delimitar el área afectada, para que después se proceda a sellar la zona con silicón de uso general DOW CORNING 781.

Una vez terminada la prueba, despresurice el generador de aerosol hasta una presión de 0.00 psi y lleve el selector de flujo del fotómetro de aerosol a la posición "CLEAR", el control selector a la posición "ZERO" y finalmente el control de energía en posición "OFF", desconecte la pistola rastreadora y guárdela en el compartimento del fotómetro, desconecte el cable de energía, limpie el equipo y guárdelo en un lugar seguro.

4.3.6 Criterios de aceptación.

El filtro o los filtros HEPA evaluados, deberán presentar no más de 0.01% de penetración de aerosol, en los marcos del filtro y la caja del filtro, la lectura deberá ser de 0.00%

La zona reparada en el filtro no deberá ser mayor al 5 % del área total de éste, en cuyo caso si fuera mayor, se deberá sustituir la unidad.

4.3.7 Referencias.

Procedural Standards for certified testing of clean rooms (National Environmental Balancing Bureau) NEBB, 1988 First Ed.

Federal Standard No. 209 E, 1992.

4.4 Procedimiento de cuenta de partículas en filtros HEPA.

4.4.1 Objetivo.

Asegurar una cuenta correcta de partículas en filtros HEPA de 99.97% y 99.99% de eficiencia, para que se mantenga una cuenta de no más de 25 partículas de 0.5 micras y tamaños mayores de diámetro por pie cúbico por minuto.

4.4.2 Alcance.

Este procedimiento aplica a todos los filtros HEPA de 99.97% y 99.99% de eficiencia de áreas asépticas.

4.4.3 Responsabilidades.

Es responsabilidad del Departamento de Validación mantener la calibración vigente del contador de partículas, realizar la programación del equipo correctamente para llevar a cabo la evaluación de cuenta de partículas y llevar a cabo el estudio de los filtros HEPA.

Es responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento y del área de evaluar, tener los filtros HEPA DE 99.97% Y 99.99% de eficiencia en buenas condiciones de uso.

4.4.4 Procedimiento.

Conecte el filtro de purga al equipo, en la parte superior.

Conecte el sensor de temperatura y humedad al equipo en la parte superior, al evaluar cuartos de áreas asépticas.

Conecte el cable para corriente del equipo en la parte posterior al regulador de voltaje con que cuenta el equipo.

Pulse la tecla "ON" del panel, el instrumento imprimirá el despliegue de la siguiente secuencia:

MET ONE INC.

(PRINTER ENABLED)

4.4.5 Programación del equipo.

Para programar la alarma límite máximo de partículas pulse la tecla "count" y seleccione con las flechas colocadas en el panel "particle size" el tamaño de partículas deseado, pulse la tecla "prog" y coloque el número de partículas de acuerdo a la tabla que se muestra enseguida. Al término pulse la tecla "enter", para guardar esta información.

Tamaño de partícula	Límite máximo
0.5 micras	25
1.0 micras	10
3.0 micras	10

En el caso de clasificación de área el límite máximo será de:

Tamaño de partícula	Límite máximo
0.5 micras	10000
1.0 micras	10000
3.0 micras	10000

En el caso de clasificación de unidades (módulos) de flujo laminar el límite máximo será de:

Tamaño de partícula	Límite máximo
0.5 micras	100
1.0 micras	100
3.0 micras	100

Para programar la fecha, hora, tiempo de muestreo, identificación, temperatura y humedad relativa, pulse la tecla deseada junto con "prog" y ponga los datos que necesita. Al término pulse la tecla "enter" para guardar la información. Pulse la tecla "mode" y seleccione las funciones auto y local.

Para trabajar con la función Fed-Std-209E (Calificación área), pulse las teclas "option 8 y enter". La impresora pondrá "enter number of locations", presione "prog" para definir cuantas veces se tendrá que muestrear el punto, pulse "enter". Pulse la tecla "run" para iniciar la prueba.

Para salir de la función Fed-Std-209E, pulse las teclas "option 9 y enter", la impresora pondrá "209E verification mode aborted".

Pulse la tecla "oper" del panel, la bomba de vacío comienza a trabajar para realizar una purga al sistema. Es importante que el filtro se encuentre conectado para evitar fallas en el equipo.

Deje calentar y purgar el equipo aproximadamente 10 minutos. Después del tiempo, ajuste la escala de la bomba con el botón "air flow" del panel, el led indicador deberá estar en verde para una operación eficiente.

Pulse la tecla "calib" para apagar la bomba, retire el filtro purga y coloque el sensor para realizar la prueba de cuenta de partículas. Coloque el sensor bajo el flujo de aire del filtro HEPA aproximadamente a 2 o 3 centímetros de distancia de la media filtrante.

Realice un recorrido a lo largo de toda la media filtrante y el bastidor. Realice 6 muestreos de un minuto recorriendo el filtro de acuerdo al punto anterior.

Para apagar el equipo, primero apague la bomba con la tecla "calib" y después presione la tecla "off".

Calcule la media de las lecturas de los muestreos realizados al bastidor del filtro y repórtela.

Calcule la media de las lecturas de los muestreos realizados a la media filtrante y repórtela.

Calcule la media de las medias del bastidor y de la media filtrante y repórtela.

4.4.6 Calibración del equipo.

El equipo será calibrado cada año por la compañía fabricante del equipo, en este caso Met One Inc.

La calibración secundaria, la realiza el equipo internamente cada vez que se enciende y los leds indicadores están en color verde.

4.4.7 Criterios de aceptación.

La prueba cumple, si la media de las medias de las seis lecturas de cada filtro no es más de 25 partículas de 0.5 micras y tamaños mayores por pie cúbico por minuto.

4.4.8 Frecuencia.

El reporte de validación para cada filtro será permanente, sin embargo, se evaluarán los filtros HEPA y el área, por lo menos 3 veces al mes o cuando se haga algún cambio crítico en el área.

4.4.9 Referencias.

Federal Standard 209 E, 1992.

Manual de operación del contador de partículas Met One Modelo A2200.

4.5 Procedimiento para la determinación del perfil de flujo de aire.

4.5.1 Objetivo.

Determinar el perfil de flujo de aire en filtros terminales y módulos de flujo laminar.

Determinar la laminaridad del flujo de aire en un módulo de flujo laminar.

Determinar la dirección del flujo de aire entre cuarto y cuarto de acuerdo a lo que indican los instrumentos de medición de las presiones diferenciales y el flujo establecido en un área aséptica.

Determinar la dirección del flujo de aire en un difusor o inyector y un extractor o retorno de aire.

4.5.2 Alcance.

Este procedimiento aplica a todas las áreas asépticas que cuenten con un sistema de manejo de aire.

4.5.3 Responsabilidades.

Es responsabilidad del Departamento de Validación, llevar a cabo la evaluaciones del perfil de flujo de aire en las áreas asépticas.

Es responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento y/o Gerencia del área a cargo del área a evaluar, tener el sistema de aire balanceado y los instrumentos de medición de presión diferencial calibrados.

Es responsabilidad de la Gerencia de Seguridad, Higiene y Protección Ambiental, vigilar el uso adecuado del tetracloruro de titanio proporcionando la información y equipo necesarios para su manejo.

4.5.4 Procedimiento.

Material y equipo:

Tetracloruro de titanio

Hisopo

Nota: Las actividades realizadas durante el manejo y/o uso con tetracloruro de titanio, no se deberán realizar sin equipo de protección personal.

Lentes de seguridad.

Guantes de neopreno.

Overol Tyvek

Careta antigases con filtros para gases orgánicos / ácidos.

A una distancia de 5 a 10 cm aproximadamente, colocar un hisopo impregnado con tetracloruro de titanio en cada uno de los filtros terminales, filtros del módulo de flujo laminar, difusor o extractor de aire.

Espere a que se genere el humo y verificar la dirección del flujo de aire obtenido.

En los cuartos de un área aséptica, se colocará un hisopo impregnado de tetracloruro de titanio, a una distancia de 5 cm aproximadamente en cada salida del cuarto a evaluar y en la apertura entre el piso y la puerta y/o la puerta y la pared teniendo la puerta cerrada.

Espere a que se genere el humo y verificar la dirección del flujo del aire obtenido.

4.5.5 Criterios de aceptación.

El perfil de flujo de los filtros terminales deberá ser continuo y uniforme.

El perfil de flujo en los difusores y extractores deberá ser continuo y en la dirección respectiva.

El perfil de flujo entre cuarto y cuarto del área aséptica, deberá ser continuo y de acuerdo a la dirección que indican los instrumentos de medición de la presión diferencial y al orden de asépsia establecido.

El perfil de flujo en el módulo de flujo laminar deberá ser continuo y uniforme produciéndose laminaridad sobre el área de trabajo y sin presentar turbulencias que desvíen la cortina de humo sobre la vertical del mismo.

4.5.6 Frecuencia.

El reporte de validación para cada área en donde se encuentren los filtros, difusores, extractores y/o módulos de flujo laminar será permanente, sin embargo, será revalidado en un periodo de 6 meses o cuando se modifique alguno de los parámetros críticos del sistema.

4.5.7 Referencias.

Federal Standard No. 209E, 1992.

Procedural standards for certified testing of cleanrooms

(National Environmental Balancing Bureau) NEBB, 1988, First Edition.

Environmental Requirements for Clean Rooms, Lee John Y.

Biopharm. July/August 1988.

4.6 Procedimiento para la evaluación de la presión diferencial en cuartos de áreas asépticas.

4.6.1 Objetivo.

Determinar que la presión diferencial se encuentra dentro de los límites establecidos, en cuartos de áreas asépticas.

4.6.2 Alcance.

Este procedimiento aplica a todas las áreas asépticas a evaluar.

4.6.3 Responsabilidades.

Es responsabilidad del Departamento de Validación evaluar la presión diferencial de las áreas asépticas que cuenten con un sistema de manejo de aire.

Es responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento y del área a evaluar, tener el sistema de aire del área balanceado y los instrumentos de medición de presión diferencial calibrados y en operación normal.

4.6.4 Procedimiento.

Mantener en operación todos los sistemas que se encuentren en el área, como calefacción, ventilación, aire acondicionado o flujo laminar, cuando se realice la prueba.

Conserve todas las puertas del área cerradas, para evitar cambios inesperados en la lectura de presión diferencial, de igual forma no circular a través de ésta durante la prueba.

Registre las presiones indicadas en los instrumentos de medición de presión diferencial en cada cuarto. Para áreas asépticas, seguir el diagrama correspondiente de localización de cada cuarto.

4.6.5 Criterios de aceptación.

La presión diferencial mínima entre cuarto y cuarto deberá ser 0.05 pulgadas de agua, para áreas asépticas.

La presión diferencial mínima entre cuarto y cuarto deberá ser 0.02 pulgadas de agua, para áreas no asépticas.

La presión diferencial mínima entre cuarto y cuarto deberá ser 0.01 pulgadas de agua, para áreas cephalosporínicas.

4.6.6 Frecuencia.

El reporte de Validación para cada área será permanente, sin embargo, es necesario, que se tenga un monitoreo continuo de las presiones diferenciales de las áreas. También se revalidará cuando se haga algún cambio crítico en el área.

4.6.7 Referencias.

Product and System Validation, Validation Manual, Environmental Systems Validation, Volume 2, BMS, 30-Nov-93, PSV-CD-E5.

4.7 Procedimiento para la determinación de cambios de aire por hora.

4.7.1 Objetivo.

Determinar el número de cambios de aire por hora de cada uno de los cuartos de áreas asépticas que así lo requieran.

4.7.2 Alcance.

Este procedimiento aplica a todas las áreas asépticas, que cuenten con un sistema de manejo de aire.

4.7.3 Responsabilidades.

Es responsabilidad del Departamento de Validación, llevar a cabo la determinación del número de cambios de aire por hora.

Es responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento y del área a evaluar, mantener en condiciones de funcionalidad la unidad manejadora de aire, tener el sistema de aire balanceado y los instrumentos de presión diferencial calibrados.

4.7.4 Procedimiento.

Equipo: Higrotermoanemómetro.

Evalúe la velocidad de aire efectiva filtrante de cada filtro HEPA o difusor en el cuarto correspondiente, el volumen del cuarto y el área efectiva de filtración. En caso de haber varios filtros o difusores en el cuarto, sumar cada una de las áreas de cada uno de ellos.

Calcule los cambios de aire, aplicando la siguiente fórmula:

$$\text{Cambios de aire por hora} = \frac{V \text{ (m/s)} \times A \text{ (m}^2\text{)} \times 3600}{Y \text{ (m}^3\text{)}}$$

En donde:

$V(m/s)$ = Velocidad promedio de aire en cada cuarto.

Nota: En caso de haber varios filtros o difusores en un cuarto, se deberá tomar el promedio de velocidad, sumando el promedio de cada filtro o Difusor y dividiendo entre el número de filtros o difusores evaluados.

$A (m^2)$ = Area efectiva de filtración.

$Y (m^3)$ = Volumen del cuarto a evaluar.

3600 = Constante resultante de la conversión de segundos a horas.

Cuando la velocidad esté en pies/min. Utilice como constante 60.

Con la cual se obtiene minutos horas, y la ecuación queda de la siguiente forma:

$$\text{Cambios de aire por hora} = \frac{V (\text{pies}/\text{min.}) \times A (\text{pies}^2) \times 3600}{Y (\text{pies}^3)}$$

4.7.5 Criterios de aceptación.

El número de cambios de aire por hora, por cuarto es de la siguiente

forma:

Cuartos de procesos asépticos 45

Cuartos de autoclaves y hornos 20

Esclusas, cuartos de lavado y cuartos de vestido 30

Entradas 20

4.7.6 Frecuencia.

El reporte de validación para cada área en donde se encuentren los filtros y/o difusores será permanente, sin embargo, será revalidado en un periodo de 6 meses, o cuando se hagan cambios críticos al sistema o cambio de filtros.

4.7.7 Referencias.

Product and System Validation, Validation Manual, Environmental Systems Validation, Volume 2, BMS, 30-Nov-93, PSV-CD-E5.

4.8 Procedimiento para la determinación de temperatura y humedad relativa en áreas asépticas.

4.8.1 Objetivo.

Determinar los parámetros de temperatura y humedad relativa en cada uno de los cuartos de áreas asépticas.

4.8.2 Alcance.

Este procedimiento aplica para todas las áreas asépticas.

4.8.3 Responsabilidades.

Es responsabilidad del Departamento de Validación evaluar que los sistemas de temperatura y humedad relativa. Así mismo, reportar cualquier anomalía a la Gerencia de Mantenimiento para que tome acción correctiva.

Es responsabilidad de la Gerencia de Mantenimiento y de la Gerencia del área a evaluar, que los sistemas de temperatura y humedad relativa operen de manera óptima.

4.8.4 Procedimiento.

Equipó:

Higrotermoanemometro, el cual deberá contar con calibración vigente.

Conecte el higrotermoanemometro, el sensor correspondiente para medición de temperatura y humedad relativa. Encienda el instrumento de medición, con el botón ON/OFF.

Seleccione la función de temperatura con el botón °F / °C (Temperature). Presione una vez para obtener la lectura en grados fahrenheit o dos veces para obtener la lectura en grados centígrados.

Coloque el sensor en el centro del cuarto o área a evaluar, evitando que éste se encuentre cerca de cualquier fuente térmica que pueda interferir en la lectura.

Espere aproximadamente 30 segundos de tal forma que la lectura se mantenga constante, finalmente registre el valor que indique el higrómetro.

Para la evaluación de humedad relativa, seleccione el botón %RH (Relative Humidity). Coloque el sensor en el centro del cuarto o área a evaluar, evitando que este se encuentre cerca de cualquier fuente de humedad que pueda interferir en la lectura.

Espere aproximadamente 30 segundos, de tal forma que la lectura se mantenga constante, finalmente registre el valor que indique el aparato. Terminada las lecturas, presione el botón ON/OFF para apagar el equipo.

4.8.5 Criterios de aceptación.

La temperatura deberá estar entre 19°C – 25°C, o de acuerdo al rango especificado para los productos que se manufacturan en el área.

La humedad relativa debe ser de acuerdo al rango especificado para cada área, o al rango especificado para los productos que se manufacturan en el área.

4.8.6 Frecuencia.

El reporte de validación y el monitoreo, para cada área será permanente y será revalidado cada que se haga algún cambio crítico en ésta.

4.8.7 Referencias.

Product and System Validation, Validation Manual, Enviromental Systems Validation, Volume 2, BMS, 30-Ncv-93, PSV-CD-E5.

V. CONCLUSIONES

Una vez terminada la elaboración de los procedimientos para la evaluación de filtros HEPA, podemos compilar los requerimientos y guías más específicas de monitoreo ambiental, para demostrar, conforme a los estándares de cuartos limpios y Buenas Prácticas de Manufactura, que los filtros HEPA nos proveen de una buena calidad de aire.

El monitoreo de la contaminación física y microbiológica, es esencial en las operaciones asépticas para proveer una información actual y continua, sobre el mantenimiento de un ambiente estable y apropiado, para la fabricación aséptica de productos farmacéuticos que serán administrados a enfermos.

Esta tesis contiene información general, sobre métodos de pruebas físicas y deberá ser usada en conjunto con el documento original, en donde se encuentra más información de las pruebas {1}, {3}, {4}, {6}, {7}, {21}, {26} y {30}.

En todos los estándares de cuartos limpios, existe una guía mínima sobre controles microbiológicos y métodos de prueba para realizarlos.

La bibliografía en esta tesis contiene documentos, que detallan todos los aspectos específicos de los métodos de prueba en la evaluación de filtros HEPA y monitoreo ambiental de cuartos limpios.

Sobre ésta base, podemos dividir las guías de monitoreo ambiental y filtros HEPA en:

Métodos de prueba físicos.

Métodos de prueba microbiológicos.

5.1 Métodos de prueba físicos.

Estas pruebas pueden realizarse a cuartos limpios y a equipos de inyección de aire limpio.

El aire limpio suministrado en estas áreas es a través de filtros HEPA provistos de rejillas y como ya hemos dicho pueden estar colocados en el techo o en la pared del área aséptica y el aire es extraído a través de rejillas.

Un cuarto limpio o área aséptica, opera sobre el principio de que el aire limpio suministrado en cantidad suficiente diluye o remueve la contaminación generada en el área de trabajo.

El equipo usado para cualquier prueba debe estar calibrado y tener trazabilidad con los Estándares Nacionales. La calibración puede ser hecha por un proveedor externo que este autorizado por la DGN (Dirección Nacional de Normas) y comprobar ésta con un certificado de calibración y su reporte correspondiente.

La entrada y salida de todo el personal y equipo del área aséptica, debe ser conforme a los Procedimientos de Operación Estándar del área a evaluar.

Las áreas y equipos de filtración, deben limpiarse conforme a los Procedimientos de Limpieza del área en estudio y así poder completar la prueba.

5.1.1 Conteo de partículas no viables.

El control de la contaminación en el aire requiere ciertas medidas para ser adoptadas y dictadas generalmente por el tipo de producto que se va a fabricar.

Las instalaciones farmacéuticas, de áreas asépticas, son diseñadas, construidas y operadas, de tal forma que minimicen el riesgo de contaminación física y microbiológica.

La medición y determinación del número y tamaño de partículas, son esenciales para asegurar un mantenimiento adecuado de las condiciones ambientales para la fabricación de productos estériles.

En la tabla No. 1, de la página número 8 de esta tesis, se encuentran los límites de tamaño y número de partículas de algunas clases áreas, esto es tomando en cuenta el valor de UCL (Límite de Confianza Superior) al 95%, calculado en los puntos de muestreo (δ).

5.1.2 Presión diferencial.

En este punto podemos decir que la prueba nos asegura, mediante un sistema de monitoreo continuo, si las condiciones de presión en cada área son adecuadas para trabajar.

En una instalación de condiciones ambientales controladas, es importante determinar el grado correcto de sobrepresión relativa, que pueden mantener áreas adyacentes en orden de contaminación (presión diferencial en cascada).

Para esto es necesario asegurar que el movimiento del aire, en áreas asépticas, sea de áreas limpias a menos limpias.

La medición de presión en los cuartos es una manera indirecta, para determinar que el flujo de aire va de un área de alta presión a una con más baja presión. La mejor calidad de aire la deberá tener el área con mayor presión.

Las presiones diferenciales entre cuartos limpios son normalmente monitoreadas, mediante el uso de magnahelics electrónicos fijos en una instalación o portátiles.

Los límites que se proponen, para trabajar áreas asépticas son los siguientes:

> 0.05 pulgadas de agua entre un área clasificada y un área adyacente de una clasificación más baja.

> 0.10 pulgadas de agua entre un área clasificada y un área no clasificada.

5.1.3 Velocidad de flujo de aire.

Todas las operaciones críticas, deben ser llevada a cabo en instalaciones que suministren aire limpio, construidas, diseñadas y operadas de tal manera que se tengan altas condiciones de aséptica, donde las partículas no viables y microbiológicas sean reducidas a niveles aceptables.

Los requisitos operacionales requieren de velocidades de aire específicas, que son proporcionadas por los filtros HEPA y aseguran el ambiente de trabajo aséptico. El equipo requerido para realizar estas mediciones es un higrotermoanemómetro o equivalente.

En la tabla No. II se proponen los límites de velocidad de flujo de aire para diferentes instalaciones.

INSTALACION	TIPO DE FLUJO	LIMITES (m/s)
Campanas de flujo laminar	Flujo laminar horizontal	0.45 ± 0.1
	Flujo laminar vertical	0.30 ± 0.05
Cabinas de Seguridad	Flujo laminar vertical	0.25 – 0.50
	Flujo de aire interno	No menos de 0.40
Sist. de aislamiento de flujo laminar	Flujo de aire vertical	0.30 – 0.60

Tabla No. II (Velocidad de flujo de aire)

5.1.4 Cambios de aire.

Como ya hemos dicho, los cuartos limpios operan convencionalmente bajo el principio, de que el aire limpio suministrado al área es de la calidad suficiente para diluir o remover la contaminación generada dentro del cuarto.

El volumen de aire suministrado y la determinación de los cambios de aire, es una medida de la frecuencia con que el aire se renueva en un cuarto o área específica.

Esto nos da una idea de la rapidez con que se puede eliminar la contaminación en un área.

Los cambios de aire pueden ser determinados mediante la velocidad de aire suministrado a través de los filtros HEPA.

En la tabla No. III se proponen algunos límites de cambios de aire por hora en diferentes áreas.

CUARTO / AREA	No. DE CAMBIOS DE AIRE POR HORA
Proceso asépticos	45
Lavado	30
Vestidor	30
Autoclave	20
Horno	20
Éclusa	20
Acondicionamiento	20

Tabla No. III (Cambios de aire por hora)

5.2 Métodos de prueba microbiológicos.

En este punto podemos concluir, que es uno de los más significativos, dentro de la tecnología para la operación de áreas asépticas, ya que con estos métodos podemos monitorear el grado de contaminación microbiológica en el ambiente, área y equipos.

Por otra parte, nos da señales para saber que tan bien están funcionando nuestro sistema de barrera físico contra la contaminación y nuestros procedimientos de operación estándar.

Mencionaré brevemente los métodos utilizados para el monitoreo ambiental microbiológico.

5.2.1 Exposición de placas.

Es un método directo de muestreo, en el cual la posible contaminación microbiana se deposita sobre un área en un periodo de tiempo específico. Para esto, se utilizan cajas Petri que contienen medio de cultivo específico para ciertos microorganismos, el diámetro recomendable para las placas de exposición es de 99 mm (área interna de 64 cm²).

TSA (Agar Soya Trypticaseína) se utiliza para colonias de microorganismos en general y SDA (Agar Dextrosa Sabouraud) por levaduras y hongos.

Las cajas Petri son expuestas en sitios específicos, dentro de la instalación en estudio y en ellas se depositan los microorganismos aerotransportados. Estas quedarán expuestas por un mínimo de 1 hora y un máximo de 1.5 horas.

Las cajas de TSA se incuban a 34.0°C ± 1°C durante 3 días y las de SDA a 22.5°C ± 1°C por 5 días. Los resultados se reportan como UFC por placa (Unidades Formadoras de Colonias).

En la tabla No. IV se proponen límites establecidos para esta prueba en diferentes áreas.

LOCALIZACIÓN	AREA EN REPOSO (UFC)	AREA EN OPERACIÓN (UFC)
Campanas de flujo laminar	1 por 2 placas	1 por 2 placas
Cabinas de seguridad	1 por 2 placas	1 por 2 placas
Areas de fabricación	< 1	< 1
Esclusas	< 1	5
Vestidor	< 5	50
Area de Autoclave	< 5	50
Area de Homo	< 5	50
Acondicionamiento	< 50	100

Tabla No. IV (Exposición de placas)

5.2.2 Monitoreo de aire centrifugado

Este método es usado para dar una estimación exacta de la contaminación microbiana en un volumen específico de aire de áreas asépticas o áreas controladas.

Para esto se utiliza un muestreador centrífugo, el cual mediante unas aspas, succiona el aire que se deposita sobre una tira de medio de cultivo, ajustada alrededor de la cabeza del equipo utilizado para la toma de muestra

Después del tiempo de muestreo, la tira de agar es removida e incubada a la temperatura correspondiente y las UFC son reportadas.

Se utilizan tiras de TSA para microorganismos en general que se incuban a una temperatura de $34.0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 3 días y de SDA para levaduras y hongos las cuales se incuban a $22.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 5 días.

En la tabla No. V se proponen límites establecidos para esta prueba en diferentes áreas.

LOCALIZACIÓN	AREA EN REPOSO (UFC)	AREA EN OPERACIÓN (UFC)
Campanas de flujo laminar	< 1	< 1
Cavinas de seguridad	< 1	< 1
Áreas de fabricación	< 1	< 5
Esclusas	< 1	10
Vestidor	< 1	50
Área de Autoclave	< 10	100
Área de Homo	< 10	100
Acondicionamiento	< 100	200

Tabla No. V (Monitoreo de aire centrifugado)

5.2.3 Placas de contacto.

Este método nos permite saber, que clase de contaminación microbiana presenta las superficies de áreas asépticas o áreas controladas y uno de los principales objetivos es determinar la eficiencia de los procedimientos de limpieza rutinaria del área correspondiente.

Se utilizan placas de TSA y SDA, una placa de cada medio de cultivo por cada sitio de muestreo.

Para esto, se desprende la tapa del estuche y la placa es retirada de éste y es arrastrada a 4 cm o 5 cm a lo largo del sitio de muestreo, asegurando que el agar esté en contacto con la superficie. Posteriormente la placa es regresada a su estuche el cual se tapa. el sitio de muestreo se limpia cuidadosamente para remover cualquier residuo de agar remanente.

Las placas de contacto de TSA se utilizan para microorganismos en general y se incuban a una temperatura de $34.0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 3 días y de SDA para levaduras y hongos las cuales se incuban a $22.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 5 días.

Los resultados se reportan como UFC por placa (Unidades Formadoras de Colonias).

En la tabla No. VI se proponen límites establecidos para esta prueba en diferentes áreas.

LOCALIZACION	AREA EN REPOSO (UFC)	AREA EN OPERACIÓN (UFC)
Campanas de flujo laminar	< 1	< 1
Cabinas de seguridad	< 1	< 1
Areas de fabricación	< 1	< 1
Esclusas	< 1	5
Vestidor	< 1	5
Area de Autoclave	< 5	25
Area de Homo	< 5	25
Acondicionamiento	< 25	50

Tabla No. VI (Placas de contacto)

5.2.4 Prueba de Swab's

El muestreo con Swab's es apropiado para monitorear superficies de áreas asépticas o áreas controladas y otros sitios que son difíciles de muestrear usando otros métodos.

En este método, también, uno de los principales objetivos es determinar la eficiencia de los procedimientos de limpieza rutinarios para eliminar la contaminación.

Se usan placas de TSA y SDA para cada sitio de muestreo y un Swab estéril es usado por placa, éste se humedece en 5 ml de una solución Ringer estéril (NaCl al 0.9%) y se corre sobre la superficie de muestreo rotando la cabeza del Swab.

Posteriormente, el Swab es zigzagueado sobre la superficie del agar, también rotando la cabeza de éste.

Las placas de TSA se utilizan para microorganismos en general y se incuban a una temperatura de $34.0^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 3 días y las de SDA para levaduras y hongos las cuales se incuban a $22.5^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ por 5 días.

Los resultados se reportan como UFC por placa (Unidades Formadoras de Colonias).

En la tabla No. VII se proponen límites establecidos para esta prueba en diferentes áreas.

LOCALIZACIÓN	AREA EN REPOSO (UFC)	AREA EN OPERACIÓN (UFC)
Campanas de flujo laminar	< 1	< 1
Cabinas de seguridad	< 1	< 1
Áreas de fabricación	< 1	< 1
Esclusas	< 1	5
Vestidor	< 2	5
Área de Autoclave	< 5	25
Área de Homo	< 5	25
Acondicionamiento	< 25	50

Tabla No. VII (Swab's)

VI. BIBLIOGRAFIA

1. Anon (1983) The guide to good pharmaceutical manufacturing practice. HMSO, London.
2. Anon (1989) The rules governing medicinal products in the European Community vol. IV. Guide to good manufacturing practice for medicinal products. HMSO, London.
3. BS 5295 (1976, 1989) Environmental cleanliness in enclosed spaces. British Standards Institution, London.
4. British Standard (BS) 5295 (1989) Environmental Cleanliness in Enclosed Spaces. British Standards Institute, Milton Keynes, UK. 1989.
5. British Standard (BS) 5726 (1992) Microbiological Safety Cabinets. British Standards Institute, Milton Keynes, UK. 1992.
6. Federal Standard (FS) 209E (1992) Airborne particulate cleanliness classes in clean rooms and clean zones. Fed-Std-209E. 1992.
7. Fundamentals of a Microbiological Environmental Monitoring Program. PDA Task Force. Journal of Parenteral Science and Technology. Vol. 44 Supplement S3-S16. 1990
8. Heuring, H. (1970) People: the key to contamination control. Contam. Control 9 18-20.
9. Howorth, F.H. (1987) Prevention of airborne infection in operating rooms. NAT News, Br. J. Theatre Nursing 24, 13-15.
10. Test-Rp-Cc001.3 HEPA and ULPA Filters. Institute of Environmental Sciences. July 1993.

11. Iest-Rp-Cc018.2 Cleanroom Housekeeping - Operating and Monitoring Procedures. Institute of Environmental Sciences (IES) Contaminatin Control Division Recommended Practice 018.2. 1992.
12. Iest-Rp-Cc021.1 Testing HEPA and ULPA Filters Media. Institute of Environmental Sciences. February 1994.
13. Iest-Rp-Cc023.1 Micro-organisms in cleanrooms. Institute of Environmental Sciences (IES). Contamination Control Division Recommended Practice 023.1. 1993.
14. Iest-Rp-Cc034.1 HEPA and ULPA Filter Leak Test. Institute of Environmental Sciences. January 1999.
15. Isolators for Pharmaceutical Applications. Editors Gerard Lee and Brian Midcalf, HMSO. Cambridge. 1995.
16. Luna, C.J. (1984) Personel: the key factor in cleanroom operations. In: Avis, K.E., Lachman, L., and Lieberman, H.A. (eds). Pharmaceutical dosage forms: parenteral medications, Vol. I. Marcel Dekker, New York, pp. 427-455.
17. MacIntosh, C.A., Lidwell, O.M., Towers, A.G. and Marples, R.R. (1978) The dimensions of skin fragments dispersed into the air during activity. J. Hyg. Camb. 81 471-479.
18. Noble, W.C. (1978) Dispersal of vacteria from human skin. J. Environ. Sci. 21 25-28.
19. Noble, W.C. (1981) Microbiology of the human skin, 2nd edn. Lloyd-Luke, London.
20. Noble, W.C., Habbema, J.D.F., Von Furth, R., Smith, I. And de Raay, C. (1976) Quantitative studies on the dispersal of skin bacteria into the air. J. Med. Microbiol. 9 53-61.

21. Noble, W.C., Lidwell, O.M. and Kingston, D. (1963) The size distribution of airborne particles carrying micro-organisms. J. Hyg. Camb. 66 385-391.
22. Parenteral Drug Association (1980) Validation of aseptic filling for solution drug products. Technical Monograph No. 2.
23. Parenteral Society Technical Monograph No. 2. Environmental Contamination Control Practice. The Parenteral Society, Swindon. 1989.
24. Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufacturers and Distributors 1997. Medicines Control Agency, London: The Stationary Office. 1997.
25. Sharp, J. (1989) Manufacture and control of sterile products. Manuf. Chem. 60 49-53.
26. Whyte, W. (1981) Settling and impaction of particles into containers in manufacturing pharmacies. J. Parent. Sci. Technol. 35 255-261.
27. Whyte, W. (1983) A multicentred investigation of clean air requirements for terminally sterilized pharmaceuticals. J. Parent. Sci. Technol. 37 138-144.
28. Whyte, W. (1984) The influence of cleanroom design on product contamination. J. Parent. Sci. Technol. 38 103-108.
29. Whyte, W. (1986) Sterility assurance and models for assessing airborne bacterial contamination. J. Parent. Sci. Technol. 40 188-197.
30. Whyte, W., Bailey, P.V. and Hodgson, R. (1979) Monitoring the causes of cleanroom contamination. Man. Chem. Aer. News 50, 65-81.