



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO

FACULTAD DE QUIMICA

DESARROLLO DE LOS PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACION REQUERIDOS EN LA FILTRACION ASEPTICA DE SOLUCIONES INYECTABLES

T E S I S

QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:

QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA

P R E S E N T A ,

ROSA LAURA HERNANDEZ CORTES



MEXICO, D. F. EXAMENES PROFESIONALES FAC. DE QUIMICA

2005

m. 345425



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.

Jurado asignado:

Presidente	Prof. María del Socorro Alpizar Ramos
Vocal	Prof. José Jesús Alvarado Pérez
Secretario	Prof. Raúl Lugo Villegas
1er sup.	Prof. Ángel Ávila Villagran
2do sup.	Casimiro Fausto Campos

El presente trabajo se realizó en el Laboratorio de Tecnología Farmacéutica de la Facultad de Química de la UNAM.

ASESOR



María del Socorro Alpizar Ramos

SUSTENTANTE



Rosa Laura Hernández Cortes

AGRADECIMIENTOS:

A mi Mamá que siempre me ha apoyado en todo y que a estado a mi lado en las buenas y en las malas. Gracias mamá, toda mi vida viviré agradecida por todo lo que me has dado. Te quiero mucho y no te defraudare, lo prometo.

A Asael. Gracias por apoyarme, darme consejos y hacerme feliz. Llegaste en el momento adecuado a mi vida. Te amo.

A mi tía Julia. Gracias tía por brindarme tu apoyo incondicional cuando lo necesite, te quiero mucho.

A mis hermanos: Juan y Daniel. Gracias por su cariño y apoyo, los quiero mucho.

A mi Padre: Te agradezco el haberme dado la vida, un hogar donde crecer y tu apoyo durante todo ese tiempo que pasamos juntos. Te quiero.

A la profesora Alpizar mi asesora de tesis. Gracias por su gentileza para conmigo, por su tiempo, consejos y la oportunidad brindada.

A mis amigas: Mari Carmen Rivas L., Zoraima Nayeli. Martínez y Nelly Rodríguez M. Les agradezco todo su apoyo, consejos, hospitalidad y amistad brindada en todo momento. Las quiero mucho.

A las profesoras: Rosa Luz Cornejo y Yolanda Caballero. Gracias por sus consejos y amistad brindada.

A Don Dani y a la Sra. Viki. Por su apoyo dentro del laboratorio de Tecnología Farmacéutica.

ÍNDICE

CAPÍTULO 1.

1.1. OBJETIVO GENERAL	1
1.2. OBJETIVOS PARTICULARES	1
1.3. INTRODUCCIÓN	2
1.4. GENERALIDADES	4
1.4.1. FORMAS FARMACÉUTICAS PARENTERALES	4
1.4.2. CLASIFICACIÓN DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS PARENTERALES	4
1.4.3. SOLUCIÓN INYECTABLE	5
1.4.4. FABRICACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE PEQUEÑO VOLUMEN	6
1.4.5. TEORIA DE PROCEDIMIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN	8
1.5. PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN Y SU IMPORTANCIA	12

CAPÍTULO 2.

2.1 FILTRACIÓN	25
2.2 FILTRACIÓN CLARIFICANTE	25
2.3 FILTRACIÓN ESTERILIZANTE	25
2.4 FILTROS MEMBRANA	26
2.4.1 COMO FUNCIONAN LOS FILTROS MEMBRANA	27
2.4.2 PROBABILIDAD DE RETENCIÓN DE LA BIOCARGA	27
2.4.3 TIPOS DE FILTROS MEMBRANA Y SU COMPATIBILIDAD QUÍMICA CON ALGUNAS SUSTANCIAS DE USO FRECUENTE	28
2.4.4 PRUEBA DE INTEGRIDAD DE FILTROS MEMBRANA	34

CAPÍTULO 3.

3.1. PROCESOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN PARA LA FILTRACIÓN ASÉPTICA DE INYECTABLES EN SOLUCIÓN	53
---	----

CAPÍTULO 4.

4.1. RECOMENDACIONES	69
4.2. CONCLUSIONES	74
4.3. BIBLIOGRAFÍA	75

CAPÍTULO 1

1.1. OBJETIVO GENERAL

Desarrollar los procedimientos normalizados de operación que se requieren en la filtración aséptica de soluciones inyectables.

1.2. OBJETIVOS PARTICULARES

- ✓ Establecer la metodología a seguir en la filtración aséptica de soluciones inyectables.
- ✓ Establecer la metodología para evaluar la integridad de los filtros membrana utilizados en la filtración aséptica.

1.3. INTRODUCCIÓN

La filtración aséptica es el proceso por el cual son eliminados microorganismos (sin ser destruidos) de un fluido haciéndolo pasar a través de un filtro. La eliminación de microorganismos o partículas de un fluido por su paso a través de un filtro es un proceso complejo, algunos mecanismos llevados a cabo durante el mismo son el tamizado o la retención superficial, estos dos mecanismos pertenecen a una serie más extensa que depende de las interacciones entre las características químicas y superficiales de la membrana, los microorganismos y el fluido que será filtrado.

La filtración aséptica de productos estériles es uno de los procesos más complejos de la industria farmacéutica. El procesamiento aséptico requiere aplicar adecuadamente los principios de control de contaminación microbiológica para eliminar microorganismos de productos estériles.

La filtración aséptica es el método de elección para la esterilización de productos que son química o físicamente inestables bajo condiciones de calentamiento y por lo tanto no pueden ser esterilizados en un autoclave. La filtración también es empleada cuando la cantidad de líquido por esterilizar es grande y además es producido continuamente en línea. El riesgo asociado a la esterilización con óxido de etileno contribuye a la necesidad de optar por técnicas de filtración aséptica.

Durante los últimos 35 años los filtros membrana se convirtieron en el método de elección para la esterilización de productos termolábiles. Estos filtros son estructuras poliméricas, delgadas, resistentes y homogéneas, algunos ejemplos son los filtros de ésteres de celulosa, los de nylon, los de politetrafluoroetileno, los de fluoruro de polivinilidín, etc.

Los productos parenterales deben ser estériles debido a que su ruta de administración anula las barreras físicas externas del cuerpo contra infecciones. Los productos oftálmicos deben también ser estériles, porque un daño en el ojo puede ser irreparable.

La presencia de microorganismos cualesquiera que sea su origen en estos productos pueden tener efectos adversos en su eficacia. La severidad del efecto

que los microorganismos puedan tener en un producto farmacéutico en particular está en función de la naturaleza del producto, de su uso y de la naturaleza de los microorganismos contaminantes. Algunos microorganismos pueden comportarse como patógenos oportunistas si son administrados por vía parenteral o si son aplicados a tejidos susceptibles o a pacientes debilitados o inmunológicamente suprimidos, lo que resultaría en una fatalidad.

1.4. GENERALIDADES

1.4.1. FORMAS FARMACÉUTICAS PARENTERALES.

Son soluciones, suspensiones o emulsiones estériles, que contienen uno o más fármacos, preparados por disolución o suspensión del principio activo y otros aditivos en agua para inyección o en un líquido no acuoso o en una mezcla de líquidos miscibles entre sí, envasados en recipientes adecuados, que se destinan para introducirse al organismo parenteralmente, por diferentes vías: subcutánea, intradérmica, intramuscular, intravenosa, intrarraquídea, epidural e intraarticular.⁽²⁰⁾

1.4.2. CLASIFICACIÓN DE LAS FORMAS FARMACÉUTICAS PARENTERALES.

Por su volumen:

- Pequeño volumen: De 1 a 10 mL.
- Gran volumen: Mayor a 10 mL hasta litros.

Por su estado físico:

- Soluciones listas para inyectar.
- Productos solubles secos listos para combinar con el disolvente antes de usar.
- Productos insolubles secos listos para combinar con el disolvente antes de usar.
- Suspensiones listas para aplicar.
- Emulsiones.

1.4.3. SOLUCIÓN INYECTABLE.

Una solución inyectable es una forma farmacéutica líquida, transparente, homogénea, libre de partículas y de pirógenos, obtenida por disolución del o los principios activos y excipientes en un vehículo adecuado. Para esterilizar las soluciones inyectables primero se ajusta el pH y posteriormente la solución resultante es filtrada a través de un filtro membrana con tamaño de poro de 0.22 μm y, cuando el producto no es termolábil, al final recibe una esterilización terminal en el autoclave. Debido a la sensibilidad de algunos fármacos al calor, es común que el producto resultante se esterilice por el método de filtración y posteriormente su envasado se realice en condiciones asépticas. Aquellas soluciones farmacéuticas que resisten el calor pueden ser esterilizadas después de su envasado por autoclaveado, ya que de esta manera se asegura la esterilidad del producto.

Los parenterales de gran volumen y de pequeño volumen que no contienen agentes antimicrobianos, al final deberán ser esterilizados. Por otra parte los parenterales de pequeño volumen que no pueden ser esterilizados al final o, aquellos que están destinados a ser usados en dosis múltiples, se les puede adicionar un agente antimicrobiano. Las excepciones generales son los productos que pasan la prueba de efectividad antimicrobiana de la USP debido al efecto antimicrobiano del principio activo, vehículo, pH, o una combinación de éstos.⁽³⁾

1.4.4. FABRICACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE PEQUEÑO VOLUMEN.

Para lograr la esterilidad y remover material particulado las soluciones parenterales generalmente son filtradas a través de un filtro membrana con un tamaño de poro de $0.22\ \mu\text{m}$. Para mantener una velocidad de flujo adecuada o para prevenir la obstrucción del filtro durante la fabricación a gran escala es necesario llevar a cabo una prefiltración usando filtros membrana con tamaño de poro entre 5μ y 110μ .

La responsabilidad del departamento de producción es generar un producto de la potencia deseada, estéril, libre de pirógenos, puro, físicamente aceptable, estéticamente empacado y con la etiqueta correcta.

En la figura 1 se resumen los procesos requeridos para la producción de parenterales de pequeño volumen.

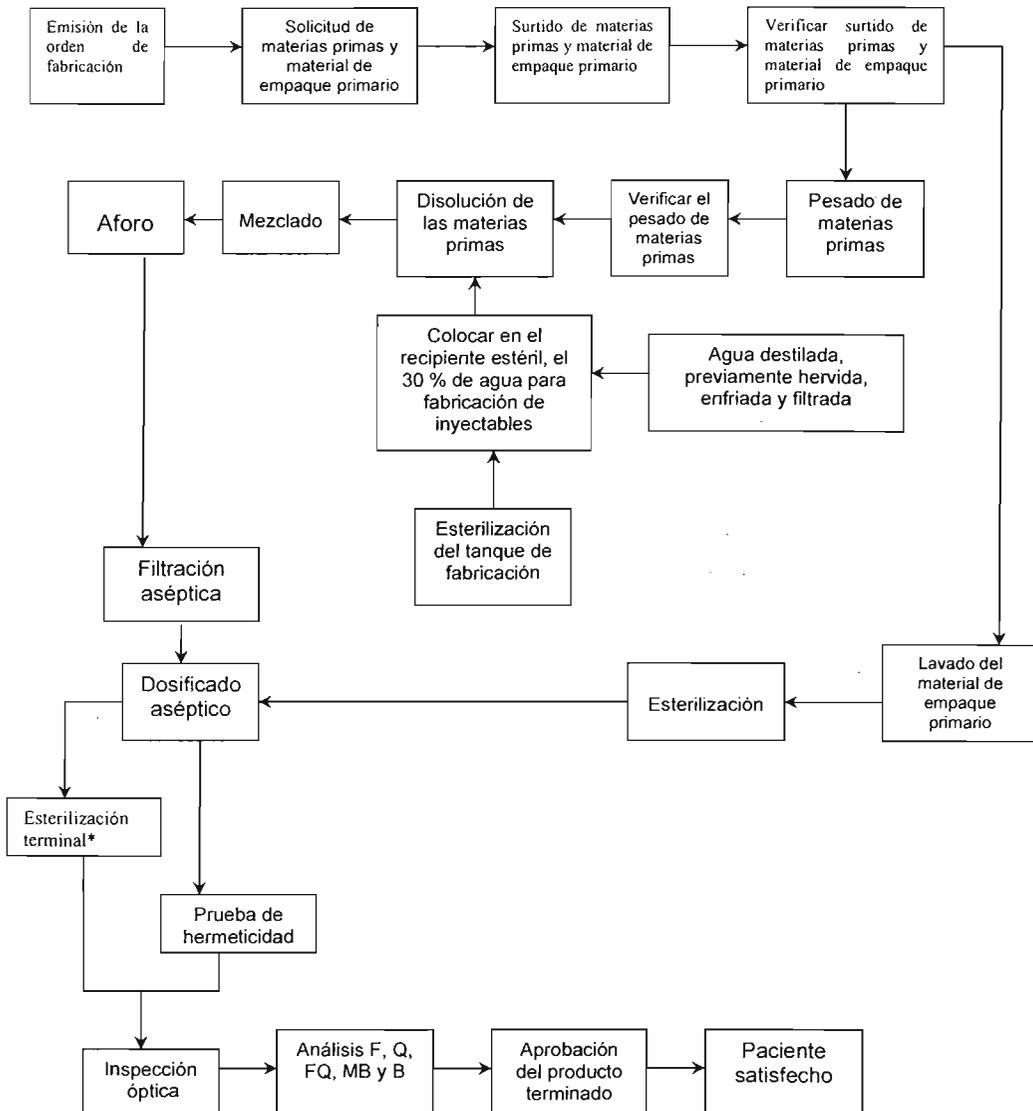


Fig. 1. Procesos requeridos para la producción de soluciones parenterales de pequeño volumen.

*No verifica cuando se trata de un llenado estéril de productos termolábiles.

1.4.5. PROCEDIENTOS NORMALIZADOS DE OPERACIÓN

Un procedimiento normalizado de operación es un documento que contiene las instrucciones necesarias para llevar a cabo de manera reproducible una operación⁽¹⁴⁾.

Los beneficios de un PNO son reducir el esfuerzo de trabajo, además de mejorar los datos de comparación, credibilidad y defensa legal.

- *PREPARACIÓN DEL PNO*

La organización determina los procedimientos o procesos que serán documentados. Después estos PNO's serán escritos por individuos que conozcan la actividad y la estructura interna de la organización.

- *REVISIÓN Y APROBACIÓN*

Los PNO's serán revisados por uno o más individuos que posean el conocimiento y la experiencia sobre el proceso.

El departamento encargado de asegurar la calidad de la organización revisa y aprueba cada PNO.

- *FRECUENCIA DE MODIFICACIONES Y REVISIONES*

Los PNO's necesitan ser actualizados, por lo tanto cuando los procedimientos son modificados, éstos deberán ponerse al día y reprobados. Si se decide modificar solo una sección de un PNO se indicará la fecha del cambio y número de revisión para tal sección en la tabla de contenidos y control de cambios.

- *LISTA DE CONTROL*

Algunas actividades usan una lista de control para asegurar que los pasos se apliquen en orden. Estas listas de control no son el PNO pero si forman parte de él.

- *CONTROL DE DOCUMENTOS*

Cada organización desarrollara un sistema numérico para identificar y etiquetar sus PNO's sistemáticamente.

- *LOCALIZACIÓN DE DOCUMENTO DE PNO Y ARCHIVO*

La organización archivará una gran lista de todos los PNO's y esta lista deberá, como mínimo incluir la fecha de la revisión más reciente.

- *FORMATO GENERAL DE UN PNO*

No existe un modelo a seguir para los procedimientos. La norma ISO 9000 no plantea ninguna exigencia al respecto. El único lineamiento lo genera el ISO 8402 (glosario de términos) que dice que "el procedimiento es una manera específica desempeñar una actividad". Ésto implica que el procedimiento deberá presentarse de manera muy clara y, especificar el desempeño de cada actividad. El formato que se recomienda para organizar la información de un procedimiento se describe enseguida, cabe mencionar que este no es un formato correcto y que puede variar con cada organización y con el tipo de PNO que se redacte.

1. PAGINA DEL TÍTULO

La primera pagina de cada PNO deberá contener la siguiente información:

- a) Un título que identifique claramente la actividad o procedimiento.
- b) Un número de identificación (ID) del PNO.
- c) Fecha de emisión y/o revisión.
- d) Nombre de la agencia aplicable de la división y/o ramo a los cuales este PNO aplica.
- e) Datos de la firma quien preparó y aprobó el PNO.

2. TABLA DE CONTENIDO Y CONTROL DE CAMBIOS

Es necesario una tabla de contenido y control de cambios para localizar rápidamente información y para denotar cambios o revisiones realizadas sólo en ciertas secciones de un PNO.

En dicha tabla se indicaran las distintas versiones del procedimiento, una descripción general de los cambios realizados y la fecha de aprobación de cada versión.

3. TEXTO

Un PNO escrito de una manera adecuada primero deberá **describir brevemente el propósito del trabajo o proceso**, incluyendo información regulatoria o estándares apropiados para el proceso del PNO; segundo **define términos especializados o inusuales** en una sección de definiciones o en la sección de discusión apropiada; tercero **denota los procedimientos secuenciales a seguir**, divididos dentro de secciones significantes, por ejemplo equipo y material, calificación del personal y consideraciones de seguridad; cuarto **describe todas las actividades de control de calidad** para tal procedimiento y enlista referencias de aquellos documentos que se consideran fuente de consulta o medio de

clarificación de algún punto del procedimiento, los cuales no pertenecen al sistema de calidad, ejemplo: manual de fabricación, F.D.A., cualquier norma externa que se utilice, planos o gráficos.

Como se mencionó anteriormente los PNO's se deberán redactar claramente con el fin de que sean realmente entendibles y de esta manera evitar dudas en su interpretación por el personal que los va a aplicar. El formato de los procedimientos describirá los pasos en orden, en tal formato se acepta el uso de diagramas de flujo que ayuden a separar secciones largas del texto y a resumir una serie de pasos.

4. DISTRIBUCIÓN

Se emitirán tantas copias como sea necesario, el mínimo serán dos (una para archivar y otra para el personal). Todas deben ir firmadas y fechadas y se dispondrá de un anexo en el que se registrará el número de copias distribuidas y el nombre y cargo del que ha recibido la copia. Aquellas copias no registradas en el anexo anterior, deberán ser identificadas como "copia no controlada". No serán válidas las copias no controladas. Las versiones obsoletas deberán ser identificadas como tal y retiradas.

1.5. PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN Y SU IMPORTANCIA

Los procesos de esterilización no resultan en un producto que pueda ser descrito como absolutamente estéril o no estéril ya que los procesos de esterilización son un fenómeno estadístico⁽²⁸⁾. El objetivo de la esterilización consiste en destruir o eliminar microorganismos presentes en un objeto o en una preparación, y asegurarse de que el objetivo se ha cumplido con un alto nivel de probabilidad. En la actualidad el objetivo aceptado para un proceso de esterilización consiste en que la probabilidad de hallar una unidad no estéril sea menos de una en un millón. Es decir que este proceso proporcionará un Nivel de Garantía de Esterilidad (SAL) igual o mayor a 10^{-6} .

En la USP son descritos cuatro métodos de esterilización: con vapor, con calor seco, con gas y con radiación ionizante. Todos los métodos son usados comúnmente para esterilizar productos parenterales, excepto la esterilización con gas y con radiación ionizante, las cuales son muy utilizadas para la esterilización de aparatos y materiales quirúrgicos. Para la elección del método de esterilización, deberá ser agrupada información básica y algunos datos como son a) determinar la naturaleza y cantidad de los microorganismos viables en el producto farmacéutico antes de la esterilización, y b) si el producto y el sistema de sellado del contenedor se encuentran en un ambiente predominantemente húmedo o seco durante la esterilización. Ambos factores son de importancia crítica para determinar las condiciones (tiempo y temperatura) para la elección de algún método de esterilización. c) Características físicas y químicas del producto que será esterilizado.

Para propósitos de esterilización, los microorganismos pueden ser categorizados en tres grupos generales:

- 1) Fácil de eliminar con calor seco o con calor húmedo.
- 2) Susceptible a calor húmedo pero resistente a calor seco (ej. *Bacillus subtilis*).
- 3) Resistente a calor húmedo pero susceptible a calor seco (ej. *Clostridium sporogenes*).

Bacillus subtilis y Clostridium sporogenes son utilizados frecuentemente como indicadores biológicos debido a que son formas esporuladas que resisten el calor, cuando se usan a una concentración conocida, mueren a una velocidad reproducible.

La USP recomienda el uso de indicadores biológicos, siempre que sea posible, o para monitorear todos los métodos de esterilización excepto la filtración esterilizante. Generalmente los indicadores biológicos son de dos tipos. Si el producto a ser esterilizado es un líquido, los microorganismos son adicionados directamente a un líquido o preparación con propiedades idénticas al producto farmacéutico para tener un ejemplo representativo. Cuando esto no es práctico, por ejemplo, cuando es esterilizado equipo y sustancias sólida, el cultivo es adicionado a papel filtro. La elección del microorganismo varía con el método de esterilización.

ESTERILIZACIÓN CON CALOR HÚMEDO.

El tratamiento en la autoclave, utilizando calor húmedo, en forma de vapor saturado, bajo presión, se utiliza cuando las soluciones y recipientes que serán esterilizados pueden resistir las condiciones de autoclaveado, este método es preferido porque es rápido y barato. Sin embargo deberá tomarse una decisión en base a experimentos que aseguren que la solución y los recipientes son permeables al vapor. Los aceites y recipientes cerrados herméticamente, normalmente no son esterilizados con vapor.

La esterilización con vapor destruye a los microorganismos por la coagulación de las proteínas en las células bacterianas. El principio básico de operación de una autoclave, es que el aire en el equipo esterilizante es desplazado por el vapor saturado, gracias al empleo de una válvula de ventilación (figura 2). La designación o elección de las condiciones de un ciclo de esterilización para productos o componentes depende de un número de factores, incluyendo la termolabilidad de los materiales, conocimiento de la penetración del calor dentro de los artículos, entre otros.

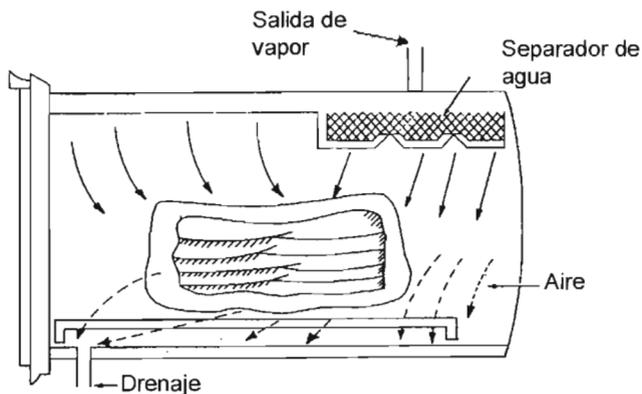


Fig. 2 Desplazamiento del vapor esterilizante.

En general, se usa una temperatura de 120 °C a 121 °C la que equivale a una presión de 15 lb por 20 min o a 27 psig a 132 °C por 3 min, sin embargo el tiempo de exposición varía según las características del producto.

El calor húmedo ofrece la ventaja de ser muy efectivo para esterilizar a bajas temperaturas ya que la capacidad térmica del vapor es más grande que la del aire caliente.

Con el uso general de empaque flexible para productos parenterales de pequeño volumen, el uso de vapor esterilizante se ha incrementado. Comparados con los envases de vidrio con tapones de hule, los contenedores plásticos flexibles (cloruro de polivinilo, poliéster o poliolefina) ofrecen ventajas de autoclaveado. Específicamente, (a) se dispone de una gran área superficial por unidad de volumen de líquido; (b) si el contenedor se mantiene en una posición horizontal durante la esterilización, es disminuida la profundidad de calor, resultando en una cartografía térmica más uniforme en los contenedores; (c) se requieren periodos más cortos de calentamiento-enfriamiento. El efecto neto es ciclos de esterilización cortos, menor potencia de degradación y costos reducidos de fabricación.

ESTERILIZACIÓN CON CALOR SECO

El calor seco es muy usado para esterilizar vidrio, equipo utilizado en las áreas de fabricación para productos parenterales y sustancias relativamente estables que resisten la degradación o altas temperaturas (>140 °C). El calor seco tiene un buen poder de penetración y no es corrosivo como el vapor no obstante el tiempo de calentamiento es lento, necesitando periodos de esterilización largos a altas temperaturas. Esto es importante para permitir la suficiente circulación del aire caliente alrededor de los materiales que serán esterilizados⁽²⁴⁾.

Una exposición de 2 h a 180°C ó 45 min a 260°C mata formas vegetativas y esporuladas de microorganismos. Estos periodos de exposición no incluyen el tiempo de retraso hasta que se alcanza la temperatura de esterilización dentro del horno. El tiempo de retraso depende de la geometría del horno, de las características de su operación y de las características de la carga.

El proceso de esterilización por calor seco se realiza en hornos especiales. Un horno moderno equipado con calentador, aire filtrado, distribuido uniformemente a través de la cámara por convección o radiación y empleando un sistema con sensores para monitorear y controlar los parámetros críticos. Cuando la unidad es empleada para esterilizar componentes tales como envases para soluciones intravenosas, se deberá evitar la acumulación de partículas en la cámara.

Los dos métodos principales para la esterilización por calor seco son utilizando rayos infrarrojo y convección de aire caliente. Los rayos infrarrojo esterilizan sólo superficies. Los hornos con sistema de convección de aire caliente normalmente son calentados eléctricamente y funcionan por gravedad o mecánicamente. En la unidad de convección por gravedad, es utilizado un ventilador para promover la uniformidad de distribución del calor a través de la cámara.

El mecanismo de esterilización de los procesos que utilizan calor seco es matar a los microorganismos a través de un proceso de oxidación. La cantidad de calor

disponible, su difusión y la interfase aire-espora tienen influencia sobre la velocidad de muerte de los microorganismos.

Un ejemplo de indicador biológico para validar y monitorear la esterilización por calor seco es una preparación de esporas de *Bacillus subtilis*.

ESTERILIZACIÓN CON GAS (OXIDO DE ETILENO)

El óxido de etileno (EtO), un gas incoloro, más pesado que el aire, p.eb, 10.8 °C, con un olor similar al éter es un agente alquilante, ampliamente usado como un agente esterilizante en hospitales y en industrias, para esterilizar artículos que no pueden ser esterilizados con vapor o calor seco. El mecanismo por el cual el EtO mata microorganismos es alquilando las proteínas, el ADN y el ARN de las células vegetativas y de las esporas. El óxido de etileno inactiva todos los microorganismos.

Lamentablemente, el EtO tiene varias desventajas:

1. Es tóxico, teratogénico, mutagénico y puede ser carcinogénico debido a los productos de su degradación: etilenglicol y sustancias clorhidrinéticas.
2. Puro es flamable y explosivo cuando se mezcla con más de 3.0 % de aire por volumen.
3. Existe la posibilidad de que en los materiales tratados sean retenidos residuos tóxicos.
4. Es imposible utilizar el EtO para la esterilización de líquidos, soluciones, emulsiones, etc. Los polvos también son difíciles de tratar mediante este método, salvo que la contaminación microbiana afecte sólo a la parte exterior de los gránulos.
5. La presencia de cristal interfiere en la eficiencia del EtO como esterilizante, debido a que las formas cristalinas pueden impedir que el EtO llegue hasta los microorganismos.
6. Las propiedades de penetración de EtO también constituyen una desventaja, dado que el material plástico o la goma absorben una cantidad significativa de EtO, por lo que los productos esterilizados con EtO a escala industrial suelen requerir alrededor de 14 días de cuarentena para permitir la eliminación espontánea de los residuos de EtO absorbidos.

Generalmente el EtO es mezclado con gases de dilución con porcentajes de diluyente del 85 al 90 %, siendo el CO₂ el gas de dilución que se emplea con mayor frecuencia. ⁽⁴⁾

Para determinar cuando el EtO es efectivo como un gas esterilizante es importante considerar varios factores tales como la concentración de gas, la temperatura, el vacío, la presión positiva, la humedad. El contenido de agua de las esporas y los substratos para los microorganismos.

La inactivación de los microorganismos sigue una cinética de primer orden y es irreversible. Esta reacción es activada por la presencia de vapor de agua (aproximadamente un 60 % de humedad relativa ambiente). El agua actúa como un vehículo para transportar el gas a través de polipropileno y polietileno. El poliestireno atrapa el EtO disipándolo a través de los años por lo tanto no es apropiado para ser esterilizado por este método.

⁽²⁴⁾Las concentraciones de oxido de etileno generalmente empleadas se encuentran entre 350 y 700 mg/mL; el tiempo del ciclo de esterilización varía de 4 a 12 h.

Después del ciclo de esterilización se elimina el gas a través de un proceso dinámico donde el aire estéril pasa por encima del producto en un tiempo de 12 a 72 h.

El proceso es monitoreado usando como indicador biológico *Bacillus subtilis* var. *niger*

En diferentes puntos de la cámara la mezcla gaseosa se muestrea y analiza por cromatografía de gases.

En la figura 3 se ilustra un ciclo típico de esterilización con oxido de etileno.

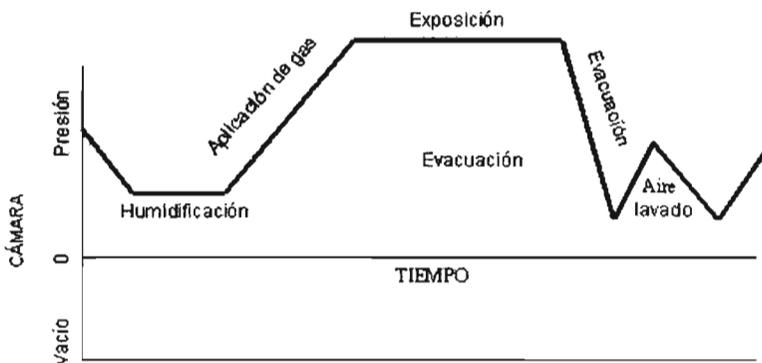


Fig. 3 Ciclo de esterilización con oxido de etileno.

ESTERILIZACIÓN POR RADIACIÓN

El rápido surgimiento de aparatos médicos incapaces de resistir las temperaturas altas utilizadas en la esterilización con vapor o con calor seco y lo concerniente a cerca de la seguridad del óxido de etileno han contribuido a la aplicación de la esterilización por radiación. Ésta también es aplicada a ciertas sustancias farmacéuticas a las cuales se les puede aplicar rayos gama para una esterilización terminal. Las ventajas de la esterilización con radiación incluyen baja reactividad química, pocos residuos, el hecho de que haya menos variables de control y la principal ventaja de este método de esterilización, es que produce un grado mínimo o nulo de degradación del producto en el paso de esterilización final en el proceso de fabricación de parenterales de pequeño volumen, en comparación con la esterilización por autoclave. Sin embargo aunque la irradiación solo causa un aumento mínimo de temperatura, se pueden ver afectados ciertos tipos y grados de plásticos y vidrios.

La esterilización por radiación incluye el uso de la radiación electromagnética o de la radiación con partículas.

La radiación electromagnética, compuesta por fotones de energía, abarca las radiaciones UV, de rayos gama, de rayos X y cósmica. La radiación gama, emitida por materiales radioactivos del tipo del cobalto-60 (^{60}Co) o del Cesio-137 (^{137}Ce) es la fuente más frecuentemente usada de las radiaciones electromagnéticas. El ^{60}Co se desintegra en el centro de un reactor nuclear emitiendo dos fotones (1.17 y 1.33 MeV) y un electrón (0.31 MeV). El tiempo de vida media de su desintegración es 5.3 años. El ^{137}Ce se desintegra emitiendo un fotón (0.661 MeV). El cesio tiene un tiempo de vida media de 33 años.

El ^{60}Co se utiliza en los irradiadores industriales de gran envergadura y el ^{137}Ce se emplea en los irradiadores de sangre.

En épocas pasadas se requería una dosis de radiación de 25 kilo gray (K Gy) para garantizar la destrucción de todas las esporas y alcanzar el nivel de garantía de esterilidad [Sterility Assurance Level (SAL)] de 10^{-6} . Este nivel de radiación se asociaba con la degradación de muchos productos farmacéuticos, por lo que hoy

en día es más adecuado conocer las especies presentes y adaptar la dosis de radiación a la biocarga de esas especies. De este modo es posible efectuar la esterilización terminal de una cantidad mucho mayor de productos farmacéuticos. La radiación ionizante destruye o inactiva microorganismos mediante la interacción de pares de iones o excitaciones que alteran la estructura molecular o la configuración espacial de macromoléculas biológicamente activas.

El daño que la radiación ionizante produce al microorganismo depende de la cantidad de energía relativa, del número de microorganismos y su resistencia a la radiación. Los organismos unicelulares tienen mayor resistencia que los multicelulares. Las bacterias Gram-positivas poseen una resistencia más grande que las bacterias Gram-negativas. Finalmente las esporas tienen una resistencia más grande que las formas vegetativas. Los virus son más resistentes que las bacterias.

La esterilización por radiaciones ionizantes requiere tener presente la dosis (o la cantidad de radiación absorbida por el material), el nivel de energía disponible y el nivel de salida disponible (que determina la velocidad con la que puede aplicarse la dosis).

La unidad de dosis absorbida es el Gray (Gy), donde $1 \text{ Gy} = \text{J/Kg}$.

Se utilizan dos tipos de aceleradores de electrones para la esterilización: máquinas de corriente alterna con una potencia de hasta 50 kW y una energía de 5 a 12 meV y máquinas de corriente continua con un espectro de potencia de 30 a 200 kW y 0.5 a 5 meV de energía. Estas máquinas generan electrones a alto voltaje, los acelera y los dirigen hacia el producto a esterilizar. Cuanto mayor es la potencia (kW) de la máquina mayor será la cantidad de electrones generados por unidad de tiempo. Cuanto mayor es la energía (meV), mayor será la penetración de los electrones en el material a esterilizar.

El indicador biológico utilizado para monitorear la esterilización por ionización son esporas de *Bacillus pumilus*.

ESTERILIZACIÓN POR FILTRACIÓN

La filtración para esterilizar se usa en aquellas soluciones parenterales que no pueden ser sometidas a un proceso de esterilización final.

Los filtros son de dos tipos básicos, filtros membrana (de superficie) y de profundidad. El mecanismo de filtración de los filtros de profundidad consiste en la adsorción o el atrapamiento aleatorio en la matriz del filtro. Estos filtros son hechos con materiales tales como tierra de diatomeas, fibras inorgánicas, fibras naturales y porcelana.

La ventaja principal de los filtros de profundidad es su habilidad para retener grandes cantidades de partículas. Sus desventajas incluyen crecimiento y reproducción de microorganismos debido a la dificultad para su limpieza, el desprendimiento de componentes del filtro durante el proceso y la retención de algunos líquidos en el filtro.

Los filtros membrana eliminan los microorganismos presentes en un medio líquido por un proceso de tamizado físico quedando retenidos en la superficie de la membrana o en su vecindad. Con fines de esterilización generalmente se utilizan filtros membrana con poros de $0.22\ \mu\text{m}$ de diámetro. Sin embargo no todos los poros en un filtro membrana son del mismo tamaño, por lo tanto el filtro puede retener todas las partículas que se encuentre dentro del tamaño promedio de los poros.

Similarmente a los filtros de profundidad, los de membrana están hechos de una gran variedad de materiales, algunos filtros fabricados de derivados de ésteres de celulosa son los más comunes. Las ventajas de los filtros membrana incluyen la no retención del producto, no hay migración de medio, y la eficiencia es independiente de la presión diferencial. La principal desventaja es la disminución de su capacidad antes de obstruirse y la necesidad de prelavado del filtro para remover surfactantes. Cuando se filtran grandes cantidades de líquidos para esterilizarlos como en las aplicaciones industriales, es muy común usar un filtro de profundidad granular ($1\text{-}5\ \mu\text{m}$) para remover la gran mayoría de las partículas y,

posteriormente, utilizar un filtro membrana para remover las partículas remanentes y microorganismos.

CAPÍTULO 2

2.1. FILTRACIÓN

La filtración es una operación unitaria en la cual una mezcla de sólidos en un líquido es forzada a pasar a través de un medio poroso (filtro) en el cual los sólidos son depositados o atrapados.

2.2. FILTRACIÓN CLARIFICANTE

En el proceso de clarificación de soluciones parenterales son eliminados sólidos indeseables presentes normalmente en concentraciones muy bajas (< 1.0 %), el proceso de filtración clarificante es realizado con la ayuda de un medio grueso el cual permite la penetración y arresto de las partículas por atrapamiento, choque (impacto) y efectos electrostáticos. Los filtros utilizados para tal fin deben tener suficiente profundidad para que las partículas con un tamaño menor a las dimensiones de los pasajes del filtro, puedan ser atrapadas durante su recorrido por tales pasajes.

En el proceso de clarificación una permeabilidad y una velocidad de filtración alta no generan una buena retención de partículas, por lo que el medio de filtración debe ofrecer la mejor relación entre permeabilidad y retención.

2.3. FILTRACIÓN ESTERILIZANTE

En el proceso de filtración esterilizante son eliminados de un líquido todos los microorganismos, excepto virus.

⁽¹⁹⁾Un filtro esterilizante es aquel que, cuando es desafiado con el microorganismo *Brevundimonas diminuta* en una concentración mínima de 10^7 microorganismos por cm^2 de área superficial del filtro, puede generar un efluente estéril.

De acuerdo a la definición dada por la FDA un filtro esterilizante es clasificado convencionalmente como aquel que tiene en promedio un diámetro de poro de $0.2 \mu\text{m}$ ó $0.22 \mu\text{m}$.^(11,15 y 25)

2.4. FILTROS MEMBRANA

Los filtros membrana tienen una estructura de malla rígida y uniforme de material polimérico con un tamaño de poro determinado durante la fabricación.

El tamaño de poro facilita la diferenciación de los filtros membrana y el desempeño de éstos, por ejemplo los filtros membrana que tienen poros con un diámetro de 0.2 μm o menores, son considerados como filtros de grado esterilizante.

Ventajas de los filtros membrana:

- No hay migración del material del que está fabricada la membrana debido a su estructura continua.
- Son extremadamente delgados por lo que retienen una cantidad pequeña de líquido.
- La integridad de estos filtros puede ser determinada por varios métodos, uno de ellos es la prueba de la burbuja, de tal manera que cualquier defecto en ellos puede ser detectado principalmente cuando se trata de un proceso crítico.
- Los organismos o sólidos más grandes que el tamaño de los poros no pueden penetrar el filtro.
- El crecimiento de microorganismos en ellos normalmente no es un problema.
- Pueden ser esterilizados con gas o con vapor de agua dependiendo del polímero con el que estén fabricados

Desventajas:

- Se obstruye con facilidad cuando la carga de partículas es mayor a la de su capacidad.
- Cuando un número suficiente de partículas son atrapadas dentro de los poros se producirá rápidamente una presión diferencial.⁽²⁶⁾
- En los filtros membrana las velocidades de flujo están limitadas por el área superficial de la membrana.

2.4.1. COMO FUNCIONAN LOS FILTROS MEMBRANA

Los filtros trabajan permitiendo el paso del fluido a través de sus poros, reteniendo partículas demasiado grandes para entrar en ellos. Este mecanismo de arrestar o capturar partículas es nombrado de diversas formas como por ejemplo retención por tamizado, captura física, intercepción directa, exclusión por tamaño, etc.

La exclusión por tamaño es un mecanismo de filtración importante y quizá para los filtros de grado esterilizante es el más confiable, esta acción de filtración puede no ser la única ya que, partículas lo suficientemente pequeñas como para entrar y pasar a través de los poros del filtro pueden ser capturadas y adheridas a las paredes de los poros. La eficiencia de este mecanismo depende de las condiciones de filtración tales como la velocidad de flujo, el número de partículas presentes, y la composición del líquido en términos de su tensión superficial, pH y fuerza iónica entre otros factores.

La eficiencia del filtro es independiente de la presión diferencial, siempre y cuando esta presión no deforme la partícula o el poro, causando una falla en la retención de las partículas. La presión diferencial es la delta de presión en los lados opuestos de la membrana, y es la que regula el flujo del líquido o gas a través del filtro.

2.4.2. PROBABILIDAD DE RETENCIÓN DE LA BIOCARGA

En situaciones en las que no todos los contaminantes son retenidos por exclusión de tamaño, el resultado puede ser probabilístico. La figura A muestra una bacteria,

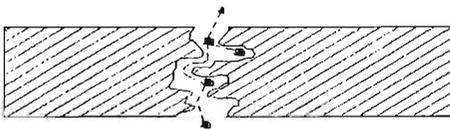


Fig.A. *Caminos alternativos para que una partícula entre en los poros de una membrana.*

más pequeña que el poro, entrando en el poro. El microorganismo puede cruzar el poro para salir con el líquido o

chocar con la pared del poro y llegar a ser capturada por fuerzas de Van der Waals o por fuerzas de valencia secundarias o residuales.

Entre mayor sea la carga microbiana mayor será la probabilidad de que algunas bacterias no sean capturadas.

La presión diferencial más baja, aumenta la probabilidad de retención de microorganismos. Cuando una partícula o microorganismo se encuentra dentro del poro, lo más probable es que choque con la pared del poro y sea adsorbida. Sin embargo a altas presiones diferenciales, la velocidad del líquido a través del poro incrementa y el tiempo de residencia de la partícula dentro del poro disminuye, resultando esto en una disminución de la probabilidad de que la partícula sea capturada.

2.4.3. TIPOS DE FILTROS MEMBRANA Y SU COMPATIBILIDAD QUÍMICA CON ALGUNAS SUSTANCIAS DE USO FRECUENTE .

Existen diferentes materiales para la fabricación de filtros membrana, pero aquellos filtros compuestos de mezclas de ésteres de celulosa son los más usados debido a que con este material es posible producir membranas con tamaño de poro pequeño y una gran uniformidad en su diámetro. Sin embargo, las membranas de acetato de celulosa puro y de nylon son usadas para sistemas de solventes para los cuales las membranas de mezclas de celulosa son inadecuadas.

Las membranas de celulosa son compatibles con la mayoría de los líquidos farmacéuticos.

Las membranas de ésteres de celulosa son atacadas por cetonas, esterés, álcalis fuertes, ácido acético y alcoholes.

Cuando se utiliza etanol o metanol es recomendable usar membranas de acetato de celulosa.

En la tabla 1 se muestra la compatibilidad química que tienen algunas membranas con ciertas sustancias químicas.

		FILTROS MEMBRANA			
		CA	PES	NCE	NY
Ácidos	Ácido acético al 5 %	R	R	R	R
	Ácido acético al 10 %	NR	R	NR	L
	Ácido acético glacial	NR	R	NR	NR
	Ácido bórico	R	T	R	L
	Ácido nítrico 6N	L	NR	R	NR
Alcoholes	Alcohol amílico	R	NR	NR	R
	Alcohol butílico	R	R	R	R
	Alcohol etílico < 80 %	R	R	R	R
	Alcohol etílico > 80 %	R	R	L	R
	Etilen glicol	R	R	L	R
	Glicerina (glicerol)	R	R	R	R
	Alcohol isobutílico	R	T	R	R
	Isopropanol	R	R	L	R
Propanol	R	T	R	R	
Bases	Hidróxido de amonio 6N	NR	R	NR	NR
	Hidróxido de potasio 6N	NR	T	NR	R
	Hidróxido de amonio 6N	NR	R	NR	NR
Solventes	Celusolve	R	T	NR	R
	Éter etílico	L	R	L	R
	Tricloroetileno	R	R	R	R
	Trietilamina	R	T	L	R

Tabla 1. Compatibilidad química de filtros membrana con algunas sustancias químicas.⁽²³⁾

R = Recomendado

L = Resistencia Limitada

NR = No recomendado

T = Probar

CA = Acetato de Celulosa

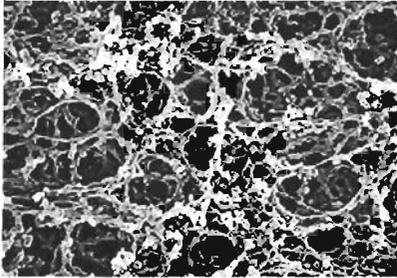
PES = Sulfonato de Polieter

NCE = Esteres de Nitrocelulosa

NY = Nylon

CARACTERÍSTICAS, BENEFICIOS Y APLICACIONES DE ALGUNOS FILTROS MEMBRANA

FILTROS MEMBRANA DE ACETATO DE CELULOSA



Membrana de acetato de celulosa

CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS

- Enlace mínimo de moléculas.
- Hidrofilica.
- Estabilidad de fuerza y dimensiones.
- Estructura uniforme de poros.

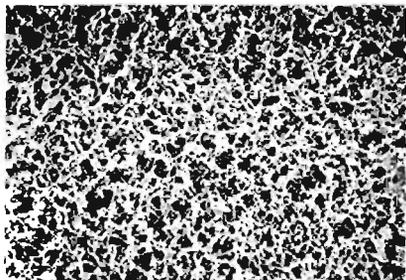
APLICACIONES

- Filtración y esterilización de proteínas y enzimas.
- Filtración esterilizante de fluidos biológicos.
- Esterilización de medios de cultivo para tejidos biológicos.
- Citología de diagnóstico.
- Facilita la recuperación de bacterias gram positivas.

DESEMPEÑO DEL FILTRO MEMBRANA DE ACETATO DE CELULOSA

Tamaño de poro	0.1 μm	0.22 μm	0.45 μm	0.6 μm	0.8 μm
Punto de burbuja mínimo	70	50	30	18	14
Psi, (Kg/ cm ²)	(4.90)	(3.50)	(2.10)	(1.26)	(1.26)

FILTROS MEMBRANA DE ESTERES DE NITROCELULOSA



Membrana de esteres de nitrocelulosa

CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS

- Hidrofílica.
- Alta velocidad de flujo para filtraciones más rápidas.
- Uniformidad en la estructura de poro para una mejor selectividad.
- Alta capacidad de enlace.
- Baja cantidad de extractables.

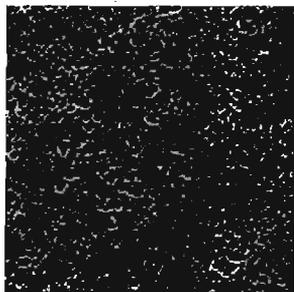
APLICACIONES

- Clarificación de soluciones acuosas y captura de partículas.
- Ensayos médicos: Hormona Gonadotrofina Coriónica (HCG), Clamidia, Virus de la Inmunodeficiencia Humana (VIH).

DESEMPEÑO DEL FILTRO MEMBRANA DE ESTERES DE NITROCELULOSA

Tamaño de poro	0.1 μm	0.22 μm	0.45 μm	0.8 μm	1.2 μm
Punto de burbuja mínimo	80	52	30	11	9
psi. (Kg/ cm ²)	(5.62)	(3.66)	(2.11)	(0.77)	(0.63)

FILTROS MEMBRANA DE NYLON



Membrana de Nylon

CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS

- Ideal para usarla en filtración general y ensayos médicos.
- Naturaleza hidrofílica.
- Baja cantidad de extractables.
- Resistencia superior.
- Área superficial grande.
- Alta capacidad para enlazar proteínas.

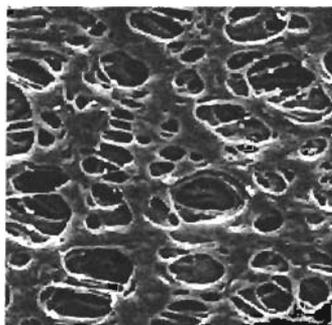
APLICACIONES

- Filtración de solventes para HPLC.
- Filtración de fármacos.
- Eliminación de bacterias.
- Eliminación de partículas

DESEMPEÑO DEL FILTRO MEMBRANA DE NYLON

Tamaño de poro	0.1 μm	0.22 μm	0.45 μm	0.6 μm	0.8 μm
Punto de burbuja mínimo psi, (Kg/ cm^2)	70 (4.92)	50 (3.51)	30 (2.11)	18 (1.27)	13 (0.91)

FILTROS MEMBRANA DE SULFONATO DE POLIÉTER



Membrana de sulfonato de poliéter

CARACTERÍSTICAS Y BENEFICIOS

- Naturaleza hidrofílica.
- Mínima cantidad de extractables.
- Baja capacidad para enlazar proteínas.
- Un rango extenso en tamaños de poro.
- Fuerza superior de rompimiento.
- Consistencia lote a lote.
- Puede ser esterilizada en autoclave

APLICACIONES

- Filtración de fármacos.
- Eliminación de bacterias.
- Eliminación de partículas

DESEMPEÑO DEL FILTRO MEMBRANA DE SULFONATO DE POLIÉTER

Tamaño de poro	0.03 μm	0.1 μm	0.22 μm	0.45 μm	0.6 μm
Punto de burbuja mínimo psi, (Kg/ cm^2)	90 (6.33)	70 (4.92)	50 (3.51)	35 (2.46)	21 (1.48)

2.4.4. PRUEBA DE INTEGRIDAD DE FILTROS MEMBRANA

Las pruebas de integridad aplicadas a filtros utilizados para esterilizar soluciones acuosas se basan en la medición de flujos de aire a través de ellos. Cuando los filtros son mojados sus poros se llenan de agua y la magnitud de flujo de aire es una consecuencia de la presión de aire aplicada. Las técnicas más relevantes para probar la integridad de los filtros son la prueba del punto de burbuja y la prueba de difusión.

Las pruebas de integridad pueden revelar si un filtro ha sufrido cambios estructurales como resultado del contacto con el producto farmacéutico o por las condiciones de proceso. Antes y después del proceso de filtración la prueba de punto de burbuja puede revelar alteraciones en el tamaño de los poros lo cual daña la capacidad de retención del filtro. La *prueba de difusión* revela cambios en la porosidad total del filtro, esta técnica se basa en el hecho de que, en un filtro mojado y bajo presión el flujo de aire pasa a través de la membrana por un proceso de difusión a través de los poros llenos de agua a presiones diferenciales debajo del punto de burbuja del filtro siguiendo la Ley de Fick. Actualmente se puede realizar una determinación del punto de burbuja simplificada en la prueba de difusión, cuando se tiene un filtro con un área grande ($>5 \text{ m}^2$ ⁽¹²⁾). Aquí la velocidad de flujo de gas a través del filtro es medida a una presión establecida (generalmente al 80 % de la presión del punto de burbuja establecida para el sistema de filtración en particular) para determinar si el flujo se debe solamente a la difusión o a una combinación de difusión y aumento de flujo. Un aumento dramático en el flujo de aire (y agua) a una presión más baja indica daños en la membrana, crecimiento en el tamaño de los poros, sellados inefectivos o fugas en el sistema.

Prueba del punto de burbuja

Una de las ventajas que ofrece un filtro membrana es la posibilidad de verificar su integridad antes y después de la filtración. Este es un control sencillo, no destructivo sobre el rendimiento del filtro conocido como prueba de punto de burbuja. Los filtros membrana tienen pasajes discretos (poros) que atraviesan su espesor, para medir el punto de burbuja se puede considerar que los poros del filtro actúan como capilares cuando están mojados con agua. La prueba de punto de burbuja está basada en el hecho de que cuando los capilares están llenos de líquido, el líquido es retenido dentro de éstos debido a la tensión superficial, por lo tanto la presión de gas necesaria para forzar a salir el líquido de los capilares debe ser suficiente para superar la tensión superficial del líquido que se está filtrando. La presión de gas mínima requerida para forzar a salir el líquido del capilar está en función directa del diámetro del capilar. Por tal razón, el punto de burbuja refleja la existencia de los poros más grandes presentes en la membrana. En la figura 4 se muestra el principio de la prueba de punto de burbuja.

La prueba de punto de burbuja es utilizada para determinar la presión a la cual hay aumento de flujo de gas a través de los poros de la membrana. Puesto que el punto de burbuja observado es una función del ángulo de contacto del líquido y del tamaño de poro, los resultados son específicos para cada tipo de membrana y de líquido, esto puede verse en la ecuación 1 donde el ángulo de contacto cambia con diferentes líquidos. Consideremos un filtro membrana integral de $0.22 \mu\text{m}$ humedecido con agua al cual se le asigna una presión de punto de burbuja de 3.2 kg/cm^2 (55 psi), exceder esta presión significará que se formarán burbujas pequeñas en toda la extensión de la abertura y emergerán por un tubo sumergido del lado de descarga del soporte del filtro. De allí el nombre de presión de punto de burbuja.

Como puede observarse en la figura 4 la presión de capilaridad es más alta en el caso de capilares pequeños que en capilares grandes; visualizando a la membrana como un conjunto de capilares de diferentes diámetros (debido a la distribución de tamaño de poro) la aplicación de presión de gas causará que el

líquido sea expulsado, primero de los capilares de mayor diámetro y después de los de menor diámetro, esto es expresado matemáticamente en la ecuación de punto de burbuja (ecuación 1) por la relación inversa de P y D.

Asumiendo que el fenómeno de capilaridad aplica para los poros de un filtro membrana, la presión de aire aplicada expulsará primero el agua contenida en los poros más grandes.

$$P = K \frac{4\gamma \cos \theta}{D} \quad \text{Ecuación 1}$$

Donde:

P = Presión del punto de burbuja

K = Factor de corrección de forma de los poros (constante experimental).

D = Diámetro de poro

γ = Tensión superficial del líquido

θ = ángulo de contacto líquido - sólido

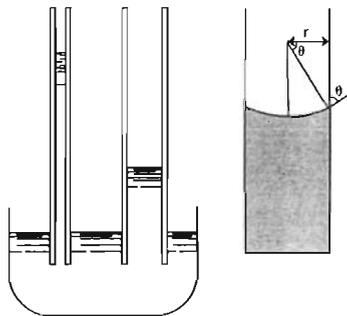
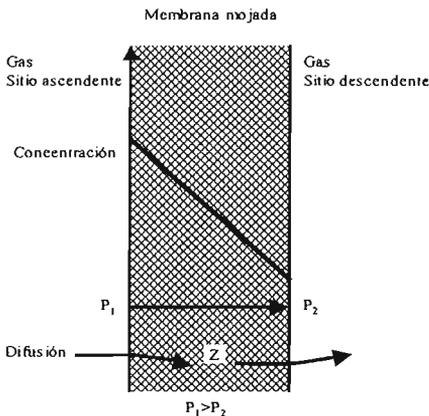


Fig. 4. Tensión superficial y ángulo de contacto en tubos capilares.

Conceptualmente el punto de burbuja es una función de trabajo debido a que representa la fuerza necesaria para romper los enlaces de las atracciones intermoleculares que caracterizan el mojado de la superficie sólida del filtro por el líquido⁽¹⁾. Por lo que, el punto de burbuja cambia para cada par líquido-sólido⁽²²⁾. Así que el punto de burbuja no es una medición específica del tamaño de poro. El *Aerospace Recommended Practice* tiene establecido que, "la prueba del punto de burbuja no mide el tamaño de los poros, sino que solo permite correlacionar la presión de capilaridad con algunas características dimensionales de la estructura de los poros" ⁽²²⁾.

Flujo de aire a través del filtro mojado

Fig. 5. Corte transversal de una Membrana experimentando la prueba de punto de burbuja



Cundo es aplicado aire o nitrógeno presurizado a filtros cuyos poros están llenos de agua, en el sitio de mayor presión las moléculas de gas se disuelven en la capa de agua fija dentro de los poros en conformidad con la Ley de Henry, la cual establece que la concentración de las moléculas de gas en la capa del líquido inmediatamente adyacente a la fase gaseosa es

proporcional a la presión parcial del gas. La figura 5 muestra un corte de una porción de membrana experimentando una prueba de punto de burbuja o de difusión. El gas disuelto difunde al sitio descendente, el cual se encuentra a una presión menor (generalmente atmosférica). Aquí el gas sale de la solución en forma de microburbujas o desplazamiento excesivo de agua.

El área de inflexión en la curva de flujo de aire

En algún lugar de esta curva el grupo de poros que sobrepasan el rango de tamaño establecido son despojados de su contenido acuoso, con lo que se facilita el paso de aire en gran cantidad a través de la membrana. Este lugar es el *punto de burbuja intrínseco* para cada combinación filtro – fluido. Como una medida de estos poros en el filtro, el punto de burbuja intrínseco se encuentra implicado directamente con el paso de partículas a través del filtro, sin embargo éste puede diferir del punto de burbuja percibido, la presión a la cual el aumento de flujo de aire llega a ser aparente para el ojo humano o para el instrumento de prueba. El número de poros que sobrepasan el rango de tamaño establecido por el fabricante es desconocido, sin embargo estos poros pueden ser lo suficientemente grandes para permitir el paso de microorganismos a través de ellos, pero pueden ser pocos en número como para producir flujos de aire lo suficientemente grandes y poder darse cuenta inmediatamente, por lo tanto el punto de burbuja percibido es más alto que el intrínseco (figura 11).

Algunos investigadores consideran que el punto de burbuja es el primer rompimiento en la porción lineal en la curva de flujo de aire difusivo, mientras que otros opinan que la vuelta hacia arriba de tal curva es aún parte del flujo de aire difusivo causado por anisotropía de los poros, poros en "forma de embudo", que en el sitio descendente, con cada incremento de presión son desprovistos de su contenido. La delgadez progresiva de la capa de agua dentro de ellos ofrece pocos impedimentos para el flujo de aire difusivo (figura 6) por lo tanto el resultado es un incremento en la velocidad de flujo de aire. Más allá del punto de burbuja la inclinación continua de la curva hacia arriba es el resultado de la apertura sucesiva de los poros más pequeños debido al aumento continuo de la presión de gas.

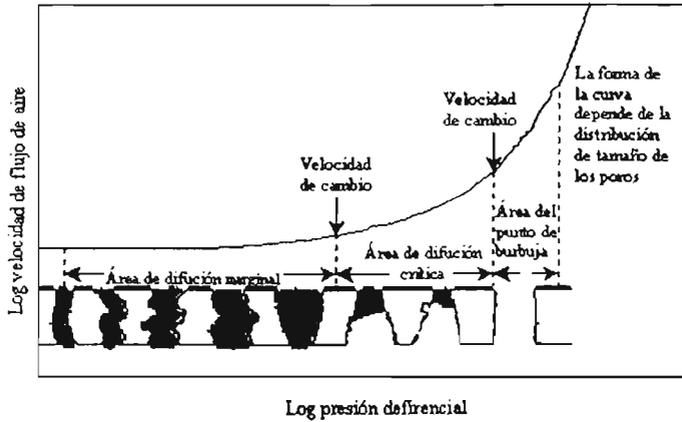


Fig. 6. Efecto de la anisotropía en la curva de flujo de aire difusivo.

La ecuación para la difusión a través de un filtro deriva de la Ley de difusión de Fick, mientras que la solubilidad del gas está dada por la Ley de Henry, y la conversión de un flujo molar a una velocidad de flujo volumétrico en fase gaseosa está dada por la Ley de gas ideal. A la presión del sitio descendente en el filtro, P_2 (usualmente presión atmosférica), la velocidad de flujo volumétrico, Q , está dada por la siguiente ecuación.

$$Q = \frac{\rho_1}{m_1} \frac{D}{H} \frac{(P_1 - P_2)}{L} \frac{RT A_f \phi}{P_2} \quad \text{Ecuación 2}$$

Donde:

ρ = densidad del líquido (g/cm³)

m_1 = peso molecular del líquido (g/mol)

D = difusibilidad del gas a través del líquido (cm²/s)

H = constante de la ley de Henry (atm)

P_1, P_2 = Presión en el sitio ascendente y descendente, respectivamente

L = grosor de la membrana (cm)

R = constante del gas 82.05 cm³ atm/mol K

T = temperatura absoluta (K)

A_f = área total del filtro membrana (cm²)

Φ = Porosidad de la membrana (adimensional)

En la ecuación 2 se observa que la velocidad de flujo difusional es proporcional a la diferencia de presión y al área de la membrana. La misma ecuación también indica que la temperatura puede afectar la velocidad de flujo directamente e indirectamente por su efecto en la densidad, en la difusibilidad y en la constante de la Ley de Henry.

En el manual de procedimiento para el punto de burbuja, la presión a la cual un flujo constante de burbujas es detectado a través de una capa de agua señala la apertura de los poros al flujo de aire en exceso. Alternativamente se puede medir el volumen de agua desplazado por el aire liberado.

En la práctica el comienzo del aumento de aire es fácilmente detectado en filtros de área pequeña, sin embargo en filtros de gran área el aumento de aire no es aparente. Como es indicado por la ecuación 2, la cantidad de difusión total incrementa con el área del filtro, como consecuencia dos filtros que tienen áreas diferentes pero que son de otro modo idénticos tendrán el mismo punto de burbuja, pero debido a la difusión, sus velocidades de flujo serán diferentes en proporción a sus áreas, esto es ilustrado en la figura 7.

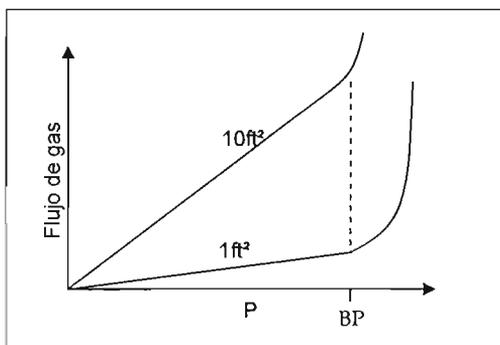


Fig. 7. Flujo de gas volumétrico como una función del tamaño del filtro

En filtros con una área grande (filtros que exceden los 5 m^2)⁽¹²⁾ es difícil observar el comienzo del aumento del flujo debido a las grandes cantidades de gas que pasan a través del filtro por difusión a presiones por debajo del punto de burbuja.

El procedimiento apropiado para determinar la integridad del filtro depende en gran parte del área efectiva del filtro. La técnica del punto de burbuja es apropiada para filtros pequeños, típicamente $<500 \text{ cm}^2$, debido a que el área es pequeña para producir flujos de aire difusivo⁽¹²⁾; de tal manera que el mejor camino para determinar el punto de burbuja en filtros con una área grande es tomar medidas de la velocidad de flujo bajo un rango amplio de presiones y observar discontinuidad o cambio en la inclinación de la curva de flujo contra presión. Antes de la existencia de equipos automatizados este procedimiento era muy tardado y tenía la desventaja de la subjetividad del operador hoy en día los aparatos automatizados para las pruebas de integridad eliminan esa desventaja, además ofrecen la oportunidad de ejecutar las pruebas sin violar la integridad del sitio descendente en el equipo de filtración.

Los equipos automatizados que se utilizan para realizar la prueba de flujo de aire difusivo miden el gas difundido durante un periodo de aproximadamente 5 minutos; si la velocidad de flujo máximo no es excedida, la presión es aumentada apropiadamente y el proceso es repetido. Esta secuencia continúa hasta que la velocidad de flujo sea igual o menor al valor especificado por el fabricante del filtro. Una velocidad más alta que el valor especificado indica que el filtro tiene defectos o poros que sobrepasan el rango de tamaño especificado por el mismo fabricante⁽⁷⁾.

El flujo de aire difusivo se puede determinar realizando una sola medición o múltiples mediciones.

La ventaja que ofrece el método de aire difusivo es la sensibilidad que tiene para detectar cambios tenues en la arquitectura de los poros tanto pequeños como grandes, de tal manera que refleja cambios en la porosidad total de la membrana.

Correlación entre los valores del punto de burbuja y la retención de microorganismos.

En los procesos de filtración esterilizante deberá ser confirmado que el filtro que se utilizará para tal propósito retendrá 10^7 UFC de *B. diminuta* por cm^2 (cantidad establecida por la FDA para un filtro de grado esterilizante⁽⁴⁾). Existen dos métodos para confirmar lo anterior uno de ellos, el más directo, es desafiando el filtro con una carga bacteriana de *B. diminuta* utilizada para definir un grado esterilizante del filtro. Si de esta manera el efluente resulta estéril entonces se prueba que el filtro cumple con la especificación establecida por la FDA. Sin embargo en esta prueba el filtro puede ser contaminado dañando su utilidad.

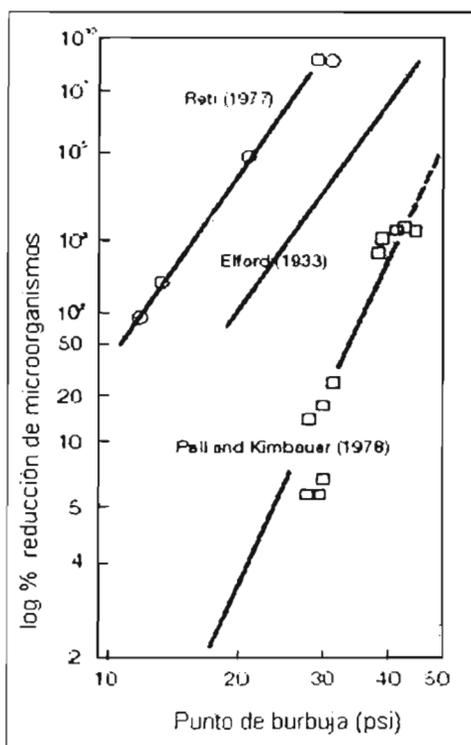


Fig. 8. Correlación del punto de burbuja con la retención microbiana.

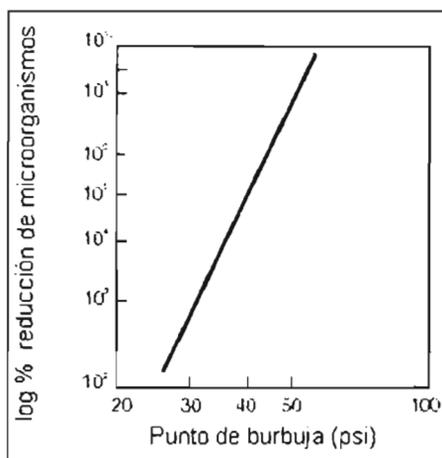


Fig. 9. efecto del cambio de punto de burbuja en la retención microbiana.

El segundo método es una prueba de integridad no destructiva que correlaciona la seguridad con la capacidad que tiene el filtro para retener microorganismos, esta prueba es la del punto de burbuja y la de flujo de aire difusivo. El punto de burbuja puede ser relacionado directamente con la retención de microorganismos, lo cual realmente es una de sus principales funciones.

⁽¹²⁾La figura 8 muestra la relación típica entre valores del punto de burbuja y log del porcentaje de reducción microbiana, las tres líneas de esta figura son combinadas en una línea simple en la figura 9, esta figura muestra que un cambio en un 10 % del punto de burbuja resulta en un cambio 10 veces más en el porcentaje de reducción de microorganismos. La figura 9 sugiere que cuando se intenta medir porcentajes de reducción tan grandes y reproducir los resultados en un $\pm 10\%$, se espera ver 10 veces más variaciones en el porcentaje de reducción de microorganismos. En otras palabras, si 10^7 es el valor verdadero, uno puede encontrar números entre 10^6 y 10^8 debido a la incertidumbre en las mediciones del punto de burbuja.

Causas de imprecisión del punto de burbuja.

1. Anisotropía. Los poros en forma de embudo causan un aumento en el efecto de difusión a presiones justo antes del punto de burbuja. El ensanchamiento de estos poros provoca que su contenido sea desalojado a presiones bajas; debido a que tienen capas de agua más delgadas que los poros más simétricos, el resultado es un impedimento menor para el paso de flujo de aire difusivo y en consecuencia aumenta la velocidad de difusión de aire. Las velocidades de difusión lo suficientemente altas alteran el punto de burbuja percibido y también enmascaran el punto de burbuja intrínseco con un valor falsamente menor, ya que el arco de la curva de flujo de aire difusivo se prolonga más con el concurrente adelgazamiento de la capa de agua figura 10.

(7) La localización exacta del punto de burbuja siempre será incierta ya que probablemente todas las membranas presentan un grado de anisotropía.

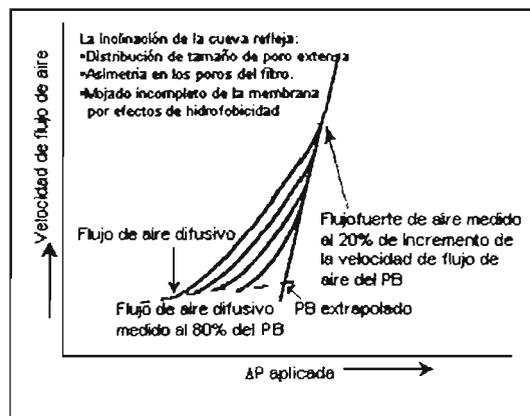
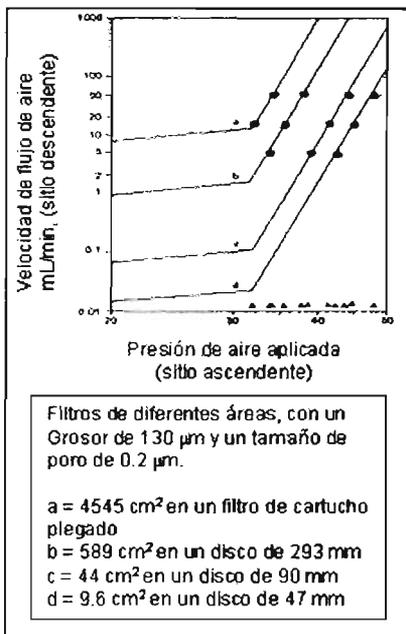


Fig. 10. Paso de aire a través de una membrana mojada; influencia de la anisotropía.

2.- Influencia del área del filtro en el punto de burbuja. El punto de burbuja intrínseco no se ve afectado por el área de un filtro homogéneo. Sin embargo el área tiene influencia sobre la cantidad de aire que pasa a través del filtro por unidad de tiempo a una presión dada simplemente como una expresión de un número más grande de poros que sobrepasan en rango de tamaño establecido por el fabricante presentes en un área más extensa. Un filtro más grande simplemente permite el paso de más aire por unidad de tiempo debido a que posee un mayor número de poros con tamaños dentro y fuera del rango establecido. Obviamente la velocidad de filtración es directamente proporcional al tamaño del filtro. Debido a todo lo anterior el área del filtro afecta el punto de burbuja percibido.



La figura 11 ilustra que a un flujo de aire de 16 mL/min un filtro membrana con un grosor de 130 μm , un tamaño de poro de 0.2 μm y un área de 9.6 cm^2 presenta un punto de burbuja de 44 psi, mientras que un filtro con el mismo grosor y tamaño de poro pero con un área de 4545 cm^2 presenta un punto de burbuja de 33 psi.⁽¹⁸⁾ El punto de burbuja intrínseco (el punto de inflexión en cada una de las curvas de la figura 11) es invariante a pesar del tamaño del filtro, este punto de burbuja verdadero y constante correlaciona con las características de retención de microorganismos del filtro.

Fig. 11. El cambio aparente en el punto de burbuja como una función de la dimensión del filtro.⁽¹⁸⁾

El punto de burbuja aparente, percibido por el operador es el que difiere.

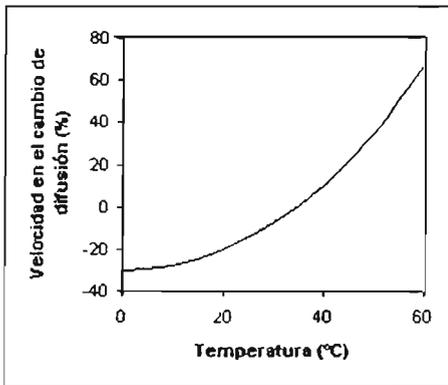
3. Efecto del aumento rápido de la presión. Después de cada incremento en la presión ese nivel debe ser mantenido por un periodo de tiempo razonable durante el cual se esperará observar burbujas. Cuando no son observadas burbujas, la presión es elevada nuevamente seguida por el periodo de espera, y así sucesivamente hasta que el punto de burbuja es alcanzado. El tiempo entre un aumento de presión y otro es determinado por la experiencia, aunque en la práctica este valor puede ser determinado erróneamente por impaciencia del operador; por lo que burbujas causadas por una cierta presión pueden llegar a ser evidentes a una presión más alta y ser erróneamente atribuidas a esta presión.

En el proceso de filtración debe emerger suficiente aire para empujar el agua fuera del filtro hacia el sitio descendente del equipo de filtración antes de que las burbujas lleguen a ser evidentes. Esto puede causar conflictos al leer la presión del punto de burbuja, al menos que el tiempo entre cada nivel de presión cerca del punto de burbuja esperado sea asignado adecuadamente en base a la experiencia. Para minimizar tal suceso, el portamembrana debe ser armado en una posición tal que el aire liberado sea incrementado en el tubo de salida donde las burbujas aparecerán y serán detectadas.

4. Efecto de la temperatura. El efecto de la temperatura sobre la difusión del gas depende de dos factores: a) de la solubilidad del gas en el líquido, y b) del coeficiente de difusión del gas.

La solubilidad de un gas en un líquido disminuye cuando la temperatura es incrementada, mientras que el coeficiente de difusión, una cantidad que refleja la viscosidad del líquido, aumenta cuando la temperatura es incrementada.

⁽²⁸⁾Por ejemplo la difusión del gas nitrógeno por debajo de 60 °C incrementa con la disminución de la viscosidad del líquido a una velocidad más rápida de lo que incrementa su solubilidad en la solución. El resultado general es un incremento en



la difusión hasta que es alcanzada una temperatura de 60 °C. Por arriba de esta temperatura la difusión del gas disminuye debido a que la solubilidad del nitrógeno en el líquido disminuye más rápido que la viscosidad del líquido. La conclusión es que las pruebas de integridad deberán realizarse dentro del rango de temperatura (20 – 25 °C) recomendado por el fabricante del filtro.

Fig. 12. Efecto de la temperatura en la difusión de aire a través de agua.

La velocidad de flujo incrementa cuando la temperatura es elevada debido a el aumento de la difusión del aire a través del agua.

5. Utilizar el producto farmacéutico para mojar la membrana. Cuando es utilizado un producto farmacéutico para mojar la membrana el punto de burbuja cambia, usualmente disminuye, debido a la diferencia en la tensión superficial entre el agua y el líquido farmacéutico. ⁽²⁸⁾Por ejemplo cuando membranas de ésteres de celulosa son mojadas con una solución de bicarbonato de sodio muestran valores de punto de burbuja de 18 ó 20 psi mientras que con agua el valor del punto de burbuja es de 32 psi. Esto no debe ser una dificultad, no obstante se deberá determinar la presión del punto de burbuja apropiada para el nuevo fluido⁽¹²⁾.

6. Influencia de los agentes utilizados para mojar la membrana. El empleo de agentes que ayudan a mojar la membrana (agente mojante) es imperativo, especialmente cuando son utilizados filtros membrana de material polimérico con carácter hidrofóbico. En la ausencia de un agente mojante se puede aplicar una presión positiva que penetre dentro del agua antes de que ésta comience a fluir a través del filtro. La presión aplicada estará en función del tamaño de poro del filtro y de su constitución polimérica. Aun cuando la presión requerida para un filtro dado sea aplicada, la membrana completa no es mojada inmediatamente; bajo estas condiciones la filtración es poco dispuesta a comenzar y lenta para desarrollarse; un agente mojante es utilizado para superar esta situación.

Para obtener una velocidad de filtración aceptable no todos los poros de una membrana necesitan ser mojados en orden. Aunque ciertos poros queden llenos de aire, la porosidad total en la membrana es tan grande que puede ser alcanzado un volumen de flujo adecuado. Sin embargo lo anterior producirá valores erróneos en la prueba de punto de burbuja (figura 13).

Para asegurar el éxito en la prueba del punto de burbuja y una filtración eficiente, es recomendable usar agentes mojantes. Un medio muy efectivo para asegurar el mojado de la membrana es utilizar alcoholes tales como isopropanol al 70 %, seguido por un flujo abundante de agua (para prevenir evaporación del alcohol).

Debido a que la integridad de cada lote de filtros es probada por el fabricante antes de liberarlo al mercado, el cliente puede tener la seguridad de que el filtro

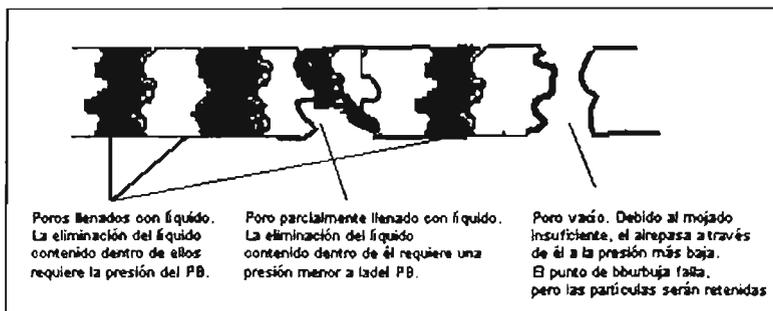


Fig. 13. Fracaso en el punto de burbuja debido a la imperfección en el mojado del filtro membrana

que adquirió está íntegro y utilizarlo con confianza, por esta razón cuando se obtienen valores bajos del punto de burbuja, lo primero que se debe hacer es verificar que el filtro ha sido mojado adecuadamente, antes que interpretar lo anterior como una falla de integridad.

⁽²⁸⁾Se ha observado que la mayoría de las fallas en la prueba del punto de burbuja, particularmente las realizadas después de la filtración, se deben a un mojado inadecuado, o más aun por el valor de la tensión superficial del producto utilizado para mojar el filtro. En estos casos, con frecuencia son usados líquidos más efectivos tales como soluciones acuosas alcohólicas, o flujos abundantes y repentinos de agua o flujos de agua caliente para remojar la membrana. Este problema también puede ser eliminado usando el producto farmacéutico para mojar el filtro antes y después de la prueba de integridad.

7. Subjetividad del personal técnico que maneja el equipo de filtración. En la prueba del punto de burbuja, el punto final toma la forma de un torrente estable de burbujas descendiendo a través del líquido o un volumen de líquido abundante desplazado por el gas. Pero una burbuja es un volumen finito de aire, formado por la coalescencia de microcantidades de flujo de aire, y el tamaño necesario para esta detección refleja la sensibilidad del observador, de tal manera que algunos

observadores verán burbujas antes de que otros lo hagan, algunos detectarán burbujas pequeñas o volúmenes pequeños de agua mientras que otros observan burbujas más grandes o un volumen de agua mayor.

⁽²⁸⁾Para procedimientos analíticos de este tipo una variación en $\pm 10\%$ es común, no obstante se desea una reducción en el porcentaje de variación, por tal motivo es necesario minimizar la subjetividad del observador familiarizándolo con el equipo o en su defecto utilizar un equipo automatizado para realizar la prueba de integridad.

Un seguimiento riguroso del protocolo de prueba establecido para un equipo de filtración dado ayuda a minimizar errores de esta fuente.

7. Otras.

- En la prueba de difusión el flujo de aire difusivo no sostiene una relación directa con el tamaño del poro sino que éste refleja la porosidad total y el grosor del filtro. Debido a que durante el proceso de filtración los poros del filtro acumulan partículas éstos se obstruyen progresivamente resultando en la disminución de la porosidad total del filtro, por lo tanto la velocidad de flujo de aire disminuye. Sabemos que sólo un excesivo aumento en la velocidad de flujo de aire señala un defecto en el filtro por lo que un flujo disminuido es aceptable, sin embargo la disminución en el flujo causada por obstrucción de los poros puede enmascarar un aumento en el flujo de aire difusivo causado por un defecto en el filtro.
- Algunos polímeros con los que se fabrican filtros membranas pueden hincharse en presencia de ciertas sustancias químicas, lo cual puede afectar el flujo de aire y los valores de la prueba de integridad física.
- La presencia de solutos en el líquido que será filtrado disminuye la tensión superficial del líquido, resultando en la disminución de la presión del punto de

burbuja. Como un resultado de esta disminución, el punto de burbuja puede ser excedido en la prueba de difusión.

- Fugas en el sitio ascendente del equipo de filtración provocan una falla aparente en la prueba de integridad.

CAPÍTULO 3



Tecnología Farmacéutica

Operación y limpieza del Equipo de Filtración Aséptica.			Fabricación de Inyectables	
			PNO: _____	En vigor: Mayo, 2005
Escrita por:	Revisada por:	Aprobada por:	Substituye a: Nueva	
Rosa Laura Hernández Cortes	Ivan Franco Morales	María del Socorro Alpizar Ramos	Próxima revisión: Mayo, 2006	

Página 1 de 16

Equipo: _____

Lote No. _____

Integrantes: _____

Fecha de inicio: _____
 Fecha de término: _____

1. Objetivos:

- I. Dar a conocer el procedimiento de operación y de limpieza del equipo de filtración aséptica.

2. Alcance:

Todos los maestros, estudiantes, investigadores, tesistas y laboratoristas.

3. Políticas:

- I. Es responsabilidad del personal que opera el equipo de filtración aséptica seguir cuidadosamente este procedimiento.



4. Seguridad:

El personal involucrado en el manejo del equipo de filtración deberá portar bata blanca limpia en buen estado, cerrada; cofia, cubrebocas y guantes de cirujano estériles. No debe portar ningún tipo de maquillaje o joyería.

Durante la operación del equipo deberá observar cuidadosamente las instrucciones de seguridad del mismo y las indicaciones del profesor que actúe como supervisor.

5. Equipo y material:

Tanque de nitrógeno de alta pureza con filtro Pall de 0.2 micras estéril

Tanque de presión de acero inoxidable con una capacidad de 5.0 L

Portamembrana Millipore de 10 cm de radio estéril

Mangueras de taygon estériles

Membranas millipor de acetato de celulosa con un diámetro de poro de 0.22 micras estériles

Matraz Erlenmeyer de 2.0 L estéril (2)

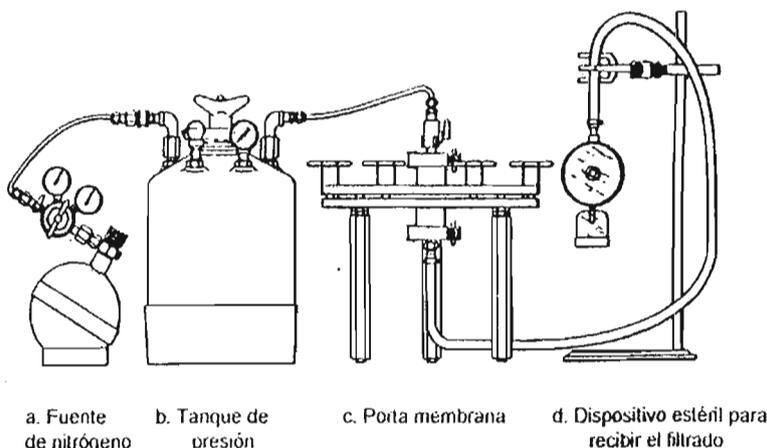
Pinzas de disección estériles

Soporte universal

Pinzas de tres dedos (1)

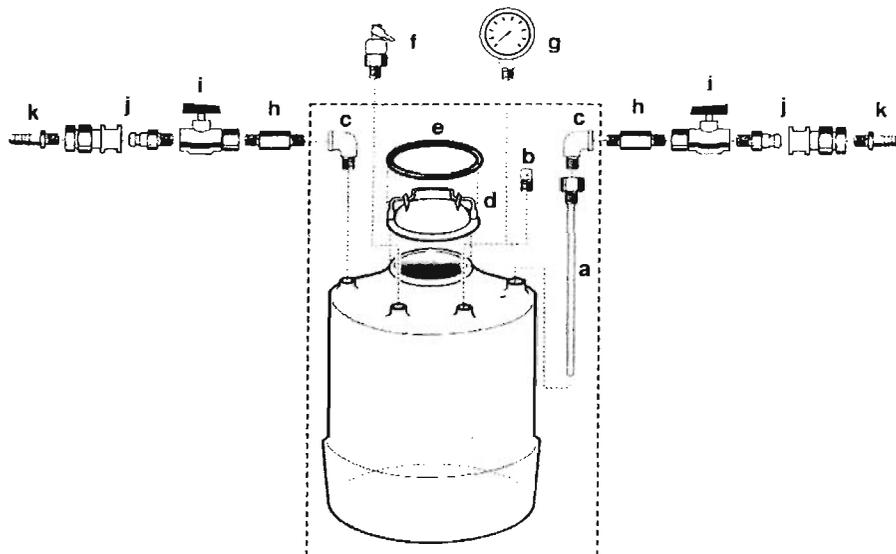
Llaves de Mohr (2)

5.1. Diagrama del equipo:





5.2. Diagrama del tanque de presión



a	Tubo de salida
b	Válvula de ventilación
c	Codo de unión
d	Tapadera del tanque
e	Anillo de hule
f	Válvula de ventilación
g	Manómetro
h	Tubo conector
i	Válvula globo
j	Complemento para la conexión
k	Conector para la manguera



6. Procedimiento:

6.1. Procedimiento de limpieza del equipo de filtración aséptica.

Realizó

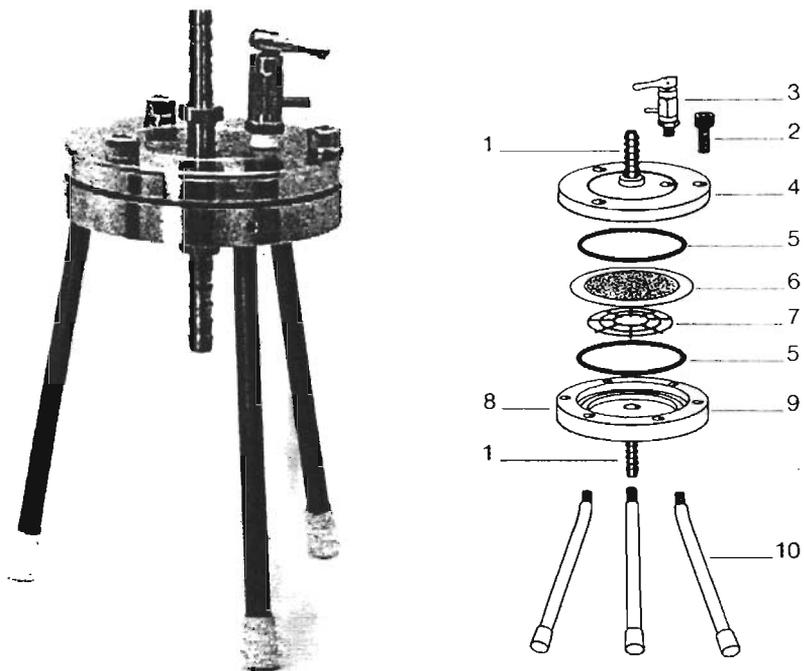
Verificó

I. Limpieza del tanque de presión:

- | | | |
|---|-------|-------|
| a). Trasladar el tanque de presión al cuarto de lavado. | _____ | _____ |
| b). Abrir el tanque de presión levantando el asa de la tapadera hacia arriba, empujar hacia adentro del tanque la tapadera, rotándola a una posición vertical para poder retirarla. | _____ | _____ |
| c). Desmontar los accesorios tales como el manómetro, la válvula de ventilación, la tubería de conexión, el tubo de salida, los codos conectores para las mangueras (ver diagrama 5.2). | _____ | _____ |
| d). Enjuagar con agua corriente el interior del tanque y sus accesorios. | _____ | _____ |
| f). Lavar el interior del tanque y sus accesorios con detergente líquido libre de fosfatos y una esponja suave. | _____ | _____ |
| g). Enjuagar con agua corriente hasta eliminar el exceso de jabón. | _____ | _____ |
| h). Enjuagar finalmente con agua destilada. | _____ | _____ |
| i). Dejar escurrir el exceso de agua sobre una tela o papel absorbente. | _____ | _____ |
| j). Secar con aire limpio. | _____ | _____ |



6.1.1. diagrama del portamembrana



1	Conector para la manguera
2	Tornillo de 3/8-16x1"
3	Válvula de ventilación
4	Plato superior
5	Anillo de teflón
6	Soporte pantalla
7	Soporte de anillos concéntricos
8	Plato inferior
9	Orificios para los tornillos
10	Soportes



Realizó

Verificó

II. Limpieza del porta membrana:

- | | | |
|---|-------|-------|
| a) Trasladar el Portamembrana al cuarto de lavado. | _____ | _____ |
| b). Retirar los tornillos que unen el plato superior al plato inferior. | _____ | _____ |
| c). Retirar el plato superior y colocarlo sobre una superficie limpia con el anillo de teflón hacia arriba. | _____ | _____ |
| d). Inclinar el plato inferior hasta que el soporte pantalla y el soporte de anillos concéntricos se deslicen fuera del plato. No tratar de sacar el soporte pantalla utilizando algún instrumento puntiagudo o con filo, ya que la malla se puede romper fácilmente. | _____ | _____ |
| e). Retirar con cuidado y con la ayuda de unas pinzas de disección los anillos de teflón de los platos superior e inferior. | _____ | _____ |
| f). Colocar los anillos de teflón sobre una tela suave. | _____ | _____ |
| g). Destornillar las patas soporte del plato inferior. | _____ | _____ |
| h). Lavar todos los accesorios incluyendo las mangueras de conexión con agua corriente, jabón líquido y una esponja. | _____ | _____ |
| i). Eliminar el exceso de jabón con agua corriente. | _____ | _____ |
| j). Enjuagar con agua destilada todos los accesorios. | _____ | _____ |
| k). Dejar escurrir el exceso de agua sobre una tela absorbente. | _____ | _____ |

Nota: Se puede usar aire comprimido, libre de aceite y filtrado para agilizar el proceso de secado y éste debe ser usado para secar las mangueras limpias.



6.2. Procedimiento para armar el porta membrana e instalar el filtro membrana

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
a). Verificar que todas las partes que componen el portamembrana estén limpias y secas.	_____	_____
b) Envolver los conectores para las mangueras con cinta de teflón (3 vueltas).	_____	_____
c). Colocar las patas soporte en el plato inferior, asegurándose que el orificio de la pata coincida con el orificio en el plato inferior, colocar el tornillo apretándolo con fuerza.	_____	_____
d). Conectar la manguera al plato inferior, ***colocar cinta de teflón sobre la manguera (5 vueltas) posteriormente asegurar la conexión con una abrazadera.	_____	_____
e). Colocar el anillo de teflón en el plato inferior, presionándolo suavemente dentro de la cavidad, sin estirarlo o enrollarlo.	_____	_____
f). Colocar el soporte de anillos concéntricos sobre el plato inferior con las divisiones verticales hacia arriba.	_____	_____
g). Colocar el soporte pantalla con la parte azul hacia arriba sobre el soporte de anillos concéntricos.	_____	_____
h). En condiciones asépticas colocar con cuidado el filtro membrana sobre el soporte pantalla. (*Si se desea utilizar un prefiltro membrana, colocarlo y centrarlo encima del filtro membrana).	_____	_____
i). Colocar el anillo de teflón en el plato superior, presionándolo suavemente dentro de la cavidad, sin estirarlo o enrollarlo.	_____	_____



	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
<p>j). Tomar el plato superior por su borde y colocarlo muy por encima del plato inferior, ver hacia abajo a través de los orificios en el plato superior y alinearlos con los orificios que se encuentran en el plato inferior, bajar el plato superior de manera que selle con el plato inferior. No cambiar de posición el plato superior una vez que el contacto se ha llevado a cabo ya que el filtro puede ser dañado. Si el alineamiento de los orificios es inadecuado levantar el plato superior y hacer la corrección necesaria.</p>	_____	_____
<p>k). Colocar los tornillos y **apretarlos sin utilizar la llave de tuercas.</p>	_____	_____
<p>l). Conectar una segunda manguera al plato superior, asegurando la conexión con una abrazadera.</p>	_____	_____
<p>m). Unir el tanque de presión al portamembrana a través del extremo libre de la manguera conectada al plato superior. Asegurar la conexión con una abrazadera.</p>	_____	_____
<p>n). Llenar el tanque de presión con el líquido que será filtrado, el volumen no deberá ser mayor a 5 L.</p>	_____	_____
<p>o). Tapar el tanque de presión introduciendo la tapadera verticalmente y rotarla hasta alinearla con la abertura del tanque, tirar del asa hacia arriba y sin dejar de jalarla cerrar la tapa forzando el asa hacia abajo.</p>	_____	_____
<p>p). Conectar la fuente de nitrógeno al tanque de presión por medio de una manguera.</p>	_____	_____



	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
q). Conectar una manguera para el desagüe al conector que se encuentra en la válvula de ventilación del portamembrana.	_____	_____
r). En condiciones asépticas unir el extremo libre de la manguera conectada al plato inferior del portamembrana al recipiente receptor del filtrado (matraz Elenmeyer estéril).	_____	_____
s). Colocar la llave de Mohr número 1(Mohr1) en la manguera que une al tanque de presión con el portamembrana, (a una distancia de 5 cm del tanque de presión).	_____	_____
t) Colocar la llave de Mohr número 2 (Mohr2) en la manguera que une al portamembrana con el recipiente receptor del filtrado, (a una distancia de 5 cm del portamembrana).	_____	_____

El uso de un prefiltro contribuye con la eficiencia del filtro membrana. El prefiltro debe ser de la misma profundidad que el filtro membrana.

**Para esterilizar el portamembrana no deberán apretarse los tornillos con la llave de tuercas, esto deberá ser aplazado hasta que el porta membrana esté frío y fuera del autoclave.

*** Es muy importante envolver las mangueras de taygon con la cinta de teflón para protegerlas del daño que provoca la abrazadera.



6.3. Procedimiento para determinar la integridad de la membrana (prueba de la burbuja)

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
a). Verificar que el equipo esté armado de tal forma que las mangueras no queden torcidas y que todas las conexiones estén aseguradas.	_____	_____
b). Verificar que la válvula de ventilación que se encuentra en el plato superior del portamembrana esté abierta (en posición vertical) y que la llave de Mohr2 esté cerrada.	_____	_____
c). Abrir la fuente de nitrógeno. Aplicando baja presión (2-3 psi).	_____	_____
d). Abrir la llave de Mohr1 y permitir que el líquido entre en el portamembrana a una velocidad lenta.	_____	_____
e). Cuando el líquido comience a fluir por la manguera de desagüe, abrir la llave de Mohr2, cerrar la válvula de ventilación (en posición horizontal) y continuar con la filtración hasta que unos 100 mL del líquido pasen a través del filtro.	_____	_____
f). Cuando el flujo se detenga incrementar lentamente la presión cada 10 segundos 5 psi hasta una presión de 33 psi.	_____	_____
g). Con cada incremento de presión, vigilar para registrar el momento en el que el gas aparezca en el recipiente receptor del filtrado:	_____	_____
➤ Burbujas a partir de la manguera de salida sumergida en el filtrado,		
➤ un flujo brusco de líquido a partir de la manguera de salida no sumergida en el filtrado o,		
➤ una serie de burbujas moviéndose con el líquido filtrado a través de la manguera transparente.		



	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
h). *Repetir la prueba del punto de burbuja si son observadas burbujas o flujo adicional durante la prueba.	_____	_____
i). Si en la repetición de la prueba de burbuja nuevamente son observadas burbujas o flujo adicional, abrir el portamembrana, retirar el filtro membrana y el prefiltro si se usó, examinar ambos anillos de teflón para descartar daño o suciedad en ellos y repetir el lavado, ensamble, autoclaveado y la prueba de integridad del sistema.	_____	_____
j). Si la prueba de burbuja fue exitosa es decir no se observaron:	_____	_____
> Burbujas a partir de la manguera de salida sumergida en el filtrado,		
> un flujo brusco de líquido a partir de la manguera de salida no sumergida en el filtrado o,		
> una serie de burbujas moviéndose con el líquido filtrado a través de la manguera transparente.		
k). Cerrar el tanque de nitrógeno y tirar del asa de la válvula de ventilación del tanque de presión hacia arriba hasta que el manómetro registre entre 2 y 3 psi.	_____	_____
l). Cerrar la llave de Mohr número 2.	_____	_____
m). Abrir la válvula de ventilación del portamembrana.	_____	_____
n). Permitir que el líquido entre a baja velocidad en el portamembrana.	_____	_____



	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
o). Cuando el líquido emerja por la válvula de ventilación a través de la manguera de desagüe abrir la llave de Mohr ² y cerrar la válvula de ventilación del portamembrana.	_____	_____
p). ** Abrir el tanque de nitrógeno e incrementar la presión teniendo cuidado de no llegar a 50 psi (presión del punto de burbuja de la membrana utilizada ¹) hasta que se haya filtrado todo el líquido.	_____	_____
q). Después de resguardar el líquido filtrado aumentar la presión por encima del punto de burbuja y registrar la presión a la cual se observaron burbujas. Si esta presión se encuentra por encima de la presión a la que se filtró el producto farmacéutico, se puede estar seguro de que la filtración ha sido exitosa.	_____	_____

* Un filtro mojado no permite el paso de gas a una presión menor a la de su punto de burbuja.

**Es una buena práctica comenzar la filtración a una presión baja, de manera que ésta pueda incrementarse para mantener una velocidad de flujo satisfactoria cuando el filtro comience a saturarse.

1. datos del filtro membrana tomados de la Guía Millipor 1990.

Tipo de membrana: GSWP.

Tamaño de poro: 0.22 µm.

Temperatura de autoclaveado: 121°C, 15 minutos.

Punto de burbuja mínimo: 50 psi (3.45 bar)



6.4 Procedimiento para desarmar el equipo después de la filtración.

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
a). Cerrar la fuente de nitrógeno.	_____	_____
b). Abrir la válvula de ventilación del tanque de presión hasta que el manómetro indique cero.	_____	_____
c). Desconectar la manguera que une al tanque de presión con la fuente de nitrógeno.	_____	_____
d). Desconectar la manguera que une al tanque de presión con el portamembrana.	_____	_____
e). Desconectar la manguera que une al portamembrana con el recipiente receptor del filtrado.	_____	_____
f). Retirar los tornillos que unen el plato superior al inferior.	_____	_____
g). Retirar el plato superior, la membrana, el soporte pantalla y el soporte de anillos concéntricos.	_____	_____
h). Trasladar los componentes al cuarto de lavado y proceder como se indica en el apartado 6.1.	_____	_____



6.5 Procedimiento para la esterilización del portamembrana.

	<u>Realizó</u>	<u>Verificó</u>
a). Verificar que el portamembrana esté limpio y que el proceso para armarlo se haya realizado adecuadamente.	_____	_____
b). Retirar las gomas que recubren las patas del porta membrana.	_____	_____
c). Verificar que los tornillos que unen al plato superior con el inferior no estén apretados.	_____	_____
d). Conectar la manguera de taygon al plato inferior.	_____	_____
e). Envolver el extremo libre de la manguera con papel pergamino sujetando éste con cinta testigo.	_____	_____
f). Conectar la manguera de taygon al plato superior.	_____	_____
g). Envolver el extremo libre de la manguera con papel pergamino sujetando éste con cinta testigo.	_____	_____
h). Abrir la válvula de ventilación (en posición vertical) del portamembrana.	_____	_____
i). Abrir el autoclave, retirar la canastilla y verificar que la llave para el desagüe se encuentre cerrada.	_____	_____
j). Colocar 2250 mL de agua destilada dentro del autoclave posteriormente introducir la canastilla.	_____	_____
k). Introducir el portamembrana en forma vertical dentro del autoclave.	_____	_____
l). Cerrar el autoclave asegurando el cierre con los dispositivos laterales, atornillando al mismo tiempo	_____	_____



los pares opuestos en forma horizontal.

	Realizó	Verificó
m). Conectar el autoclave y activar la perilla de encendido posicionándola en velocidad media de calentamiento.	_____	_____
n). Cerrar la válvula de descarga.	_____	_____
o). Cuando el termómetro registre una temperatura de 121 °C y el manómetro una presión de 21.5 lb/pulg ² cambiar la posición de la perilla de encendido a la opción de velocidad mínima de calentamiento.	_____	_____
p). Transcurridos 20 minutos a una temperatura de 121 °C con una presión de 21.5 lb/ pulg ² apagar el equipo y desconectarlo.	_____	_____
q). Permitir que la presión disminuya lentamente *sin abrir la válvula de descarga.	_____	_____
r). Cuando el manómetro indique una presión de 5 lb/ pulg ² abrir lentamente la válvula de descarga hasta que la presión disminuya a cero.	_____	_____
s). En el momento que el termómetro registre una temperatura de 60 °C abrir la llave para el desagüe y recibir el agua en un vaso de precipitados y desecharla por la tarja.	_____	_____
t). Aflojar la tapadera del autoclave destornillando al mismo tiempo los pares opuestos de los dispositivos de ésta hasta que queden en posición vertical.	_____	_____
u). Cuando el termómetro marque 30 °C abrir la tapadera del equipo y retirar con cuidado el portamembrana.	_____	_____



Realizó

Verificó

v) Verificar que la esterilización fue exitosa
(las franjas de la cinta testigo son de color café),
si es así cuando el portamembrana esté frío apretar
los tornillos que unen el plato superior con el inferior.

*Es importante aplicar una descarga de vapor lenta para evitar un cambio brusco de presión y la
consecuente ruptura del filtro membrana.

CAPÍTULO 4

ESTA TESIS NO SALE
DE LA BIBLIOTECA

4.1. RECOMENDACIONES

- En primer lugar es importante comprender que existen dos métodos para probar la integridad de un filtro y es conveniente pensar que las dos pruebas existen por separado aunque la prueba del punto de burbuja y la de difusión no son completamente independientes. En realidad ocurre difusión durante la prueba del punto de burbuja de filtros con área pequeña ($<500 \text{ cm}^2$ ⁽¹²⁾), pero la velocidad de difusión en estos casos es muy baja para alterar el resultado de la prueba del punto de burbuja, mientras que en filtros con un área mayor ($>5 \text{ m}^2$ ⁽¹²⁾) son desplazados grandes volúmenes de aire (y agua) antes de que las burbujas puedan ser detectadas por lo que es recomendable realizar una prueba de difusión en estos casos.

El PNO para la filtración aséptica de soluciones inyectables y para la evaluación de la integridad de los filtros membrana se realizó en forma práctica en el laboratorio de Tecnología Farmacéutica, utilizando el equipo de filtración del mismo laboratorio. En el transcurso de la práctica se observó una serie de fallas como por ejemplo, fugas en el tanque de presión, una colocación inadecuada del equipo y no se mojó adecuadamente la membrana por lo que fueron observadas una serie de burbujas a una presión de 5 psi; cuando se corrigieron las fallas no se observaron burbujas ni tampoco un incremento en el flujo de agua a presiones por debajo del punto de burbuja (en este caso 50 psi). Es importante conocer como mínimo los siguientes puntos para minimizar los errores que pudieran cometerse cuando se realiza una prueba de integridad a un filtro dado.

➤ ⁽¹⁵⁾*Puntos a considerar cuando se realiza la prueba del punto de burbuja manual.*

- La presión debe ser aumentada lentamente de manera adecuada, permitiendo que ésta se estabilice en cada incremento ya que de lo contrario el valor de la presión del punto de burbuja obtenido puede ser mayor al verdadero.
- La prueba no puede ser repetida sin antes mojar nuevamente la membrana.
- Minimizar las conexiones en la parte descendente del equipo de filtración y evitar el enroscamiento de las mangueras, principalmente de la manguera por la que pasa el líquido filtrado.
- Armar el equipo de filtración en forma alineada (horizontal), para evitar que las mangueras se doblen, y de esta manera observar mejor las burbujas.
- Verificar que no haya fugas en el sistema de filtración.
- Definir claramente el punto de burbuja como un aumento en el flujo de aire. El error más común es identificar burbujas que no son el resultado de un aumento de flujo ya que algunas burbujas son resultado de la difusión a través de la membrana mojada. El libre flujo de aire es la indicación, no la primer burbuja.
- La prueba del punto de burbuja realizada manualmente puede ser dominada de un modo diferente de un operador a otro, de manera que el personal que realizará la prueba, debe ser entrenado apropiadamente para llevar a cabo la prueba e interpretar correctamente los resultados.
- Mantener el volumen ascendente como un mínimo, debido a que con volúmenes ascendentes extremadamente grandes, se requiere un tiempo largo de estabilización entre los aumentos de presión.
- Mantener la temperatura dentro del rango requerido.

➤ ⁽¹⁵⁾*Puntos a considerar cuando se realiza la prueba del punto de burbuja automatizada.*

- El equipo automatizado deberá ser periódicamente calibrado para asegurar resultados significativos.

Cuando observamos burbujas a una presión muy baja, nuestra pregunta es ¿Qué pasó?, y nuestra respuesta inmediata es ¿no es posible que nuestro filtro esté dañado, puesto que el fabricante asegura un 99.99 % de eficacia en su producto!. Con seguridad, lo más probable es que el filtro esté íntegro y que nosotros estemos cometiendo un error; para saber como afrontar estos hechos, es recomendable tomar en cuenta lo antes expuesto y lo siguiente para interpretar correctamente los resultados en la prueba del punto de burbuja y en dado caso de que la prueba falle, qué puede uno hacer.

➤ ⁽²⁸⁾*La interpretación correcta de los resultados en la prueba del punto de burbuja.*

- La presencia de burbujas continuas a una presión de 5 psi indica daño en la integridad del sistema tales como conexiones y sellado de anillos, o que el mojado de la membrana no ha sido completo. En casos como éste se debe verificar que todas las conexiones se encuentren perfectamente selladas, reemplazar los anillos, y volver a mojar el filtro.
- A un 50 % de la presión del punto de burbuja, la presencia de burbujas continuas indican un mojado incompleto o una alta velocidad de difusión. En este caso mojar nuevamente el filtro.
- A un 80 % de la presión del punto de burbuja, la presencia de burbujas continuas indican una velocidad alta de difusión.
- Si burbujas continuas son o no observadas a el punto de burbuja mínimo el filtro pasa la prueba del punto de burbuja.

- Si la prueba de integridad falla los siguientes pasos son recomendados:
- Asegurarse de que se ha seleccionado la prueba de integridad correcta.
 - Confirmar que se están usando los parámetros correctos de prueba.
 - Confirmar que se está utilizando el fluido correcto para mojar la membrana.
 - Asegurar que no hay fugas en el sistema de filtración.
 - Asegurar que la temperatura durante la prueba se encuentra dentro de las especificaciones.
 - Asegurar que el equipo de filtración está armado correctamente y que funciona adecuadamente.
 - Confirmar que el equipo está calibrado apropiadamente.
 - Confirmar que está instalado el filtro correcto.
 - Remojar el filtro de acuerdo a las especificaciones y repetir la prueba.
 - Si la prueba de integridad falla nuevamente, después de haber cumplido con lo antes mencionado, la integridad del filtro está dañada.

4.2. CONCLUSIONES

Al finalizar este trabajo los objetivos planteados en un principio se cumplieron con éxito, puesto que fueron desarrollados los procedimientos normalizados de operación requeridos en la filtración aséptica de inyectables, estableciéndose la metodología a seguir en la filtración aséptica de soluciones inyectables y la metodología para evaluar la integridad de los filtros membrana utilizados en la filtración aséptica.

Es de gran importancia que en la industria farmacéutica existan Procedimientos Normalizados de Operación, no solamente en el área de inyectables sino en todas las áreas, debido a que con ello se minimizan los errores y se obtiene un nivel más alto en la calidad de los productos fabricados.

Algo importante que observé a nivel laboratorio es que la persona que sigue un PNO, previamente debe ser familiarizada con la técnica, con los principios básicos de la misma, con el equipo que manejará y concientizarla acerca de la importancia que implica realizar adecuadamente el trabajo, para que de esta manera realice un trabajo con calidad.

El lenguaje que se utiliza para desarrollar un PNO debe ser claro, para ser comprendido por toda aquella persona afín al área, que en un momento dado sea elegida para ponerlo en práctica.

Bibliografía.

1. **A. Baszkin**, "Teorical Considerations of Bubble Point Measurement: Solid/liquid Wetting Interaction." Pharm. Technol. 2, 22-31 (1978).
2. **Alexander Servant A.G.**, Manual para Documentar Sistemas de Calidad, Prentice Hall, México, 1998, pag. 159-184.
3. **Gilbert S. Banker et al.**, Modern Pharmaceutics, Third Edition Vol.72, Marcel Dekker INC., New York 1996, pag. 458-477.
4. **Guía de la FDA** en Productos Farmacéuticos Estériles producidos mediante un procesamiento aséptico, junio 1987, reimpresso en junio de 1991.
5. **Guidance for Preparing Standar Operating Procedures (SOPs)** EPA QA/G-6. www.epa.gov/quality.
6. **J. P. Agalloco et al.**, "Aseptic Processing: A Review of Current Industry Practice". Pharm Technol www.pharmtech.com (2004).
7. **J. P. Agalloco, T. H. Meltzer, et al.**, Filter Integrity Testing in Liquid Applications, Revisited. Part I. Pharm Technol www.pharmtech.com (2003).
8. **Kneth E.A. et al.**, Pharmaceutical Dosage Forms: Parenteral Medications, Second Edition Vol. 2, Marcel Dekker INC. New York 1993, pag. 1-11.
9. **Lachman L. et al.**, The Theory and Practice of Industria Pharmacy, Third Edition, Lea & Febier, Philadelphia USA 1986, Pag. 146-167.
10. **Lindeman W. et al.**, Inyectables y su Control, Continental S.A., México D.F. 1962, pag. 9-11, 21-61.
11. **L. MacBurnie And B. Bardo**, "Validation of Sterile Filtration, Pharm. Technol. www.pharmtech.com (2004).
12. **Maik. W.J. and T.H. Meltzer**, "The Integrity Tests Choosing Diffusive Airflows or Buble Points, Pharm. Technol. www.pharmtech.com (2004).
13. **M. J. Mattenson and C. Orr**, Filtration Principles and Practices, Second Edition, Marcel Dekker Inc. 1987, New York USA, Pag. 133 –167.
14. **Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998**, Buenas Prácticas de Fabricación para fármacos.

15. **Parenteral Drug Association**, Technical Report No. 26, "Sterilizing Filtration of Liquids", J. Pharm. Sci. Technol. 52, S-1 (1998).
16. **Pharmaceutical Inspection Convention**, Pharmaceutical Inspection Co – operation Scheme, "Recommendation on the Validation of Aseptic Processes, PIC/S Secretariat P.O. Box 5695 CH- 1211 Geneva 11 2004, <http://www.picscheme.org>.
17. **P. M. Priebe and J. K. Schmitz**, Sterilizing – Grade Filtration, Pharm Technol www.pharmtech.com (2004).
18. **P.R. Johnston, R.C. Lukaszewicz, and T.H. Meltzer**, "Certain Imprecisions in the Bubble Point Measurement", J. Parenteral Sci. Technol. 35(1), 36-39 (1981).
19. **Remington G. A.**, Farmacia 20^a ed. Tomo 1. Panamerica, Madrid España 2003, pag. 875-899.
20. **Sara Rosario Cruz Morales**. Tesis. Desarrollo de un inyectable de sulfato de gentamicina y s-alilcisteina. UNAM, Fac. Química México, D.F. 2004.
21. **S. F. Emory**, "Principles of Integrity – Testing Hydrophilic Microporous Membrane Filters, Part I", Pharmaceutical Technology, 1989.
22. **Society of Automotive Engineers**, "Bubble Point Test Method" Aerospace Recommended Practice, ARP-901 (1968).
23. **Sterlitech**
<http://www.sterlitech.com/products/membranes/compatibilitychart.htm>
24. **Swarbrick J. et al.** Enciclopedia of Pharmaceutical Tecnology. Vol. 1 and Vol. 2 Marcel Dekker, INC. New York 2002, pag. 1237-1244, 2872-2874.
25. 1237-1244, 2872-2874.
26. **Technical Brief**, "The Practical Art of Microfiltration", Millipor Corporation, Lit. No. TB018 U.S.A. 12/82, 1986.
27. **T.H. Meltzer and T.R. Meyers**, "The Bubble Point in Membrane Characterization", Bull. Parenteral Drug Assoc., 25 165-173 (1971).
28. **T. H. Meltzer**, Filtration in the Pharmaceutical Industry, Marcel dekker Inc New York 1987, pag. 159-174, 219-293.

29. **USP 24 NF 19.** “Sterilization and sterility assurance of compendial articles”
United States Pharmacopoeial Convention 1999, pag. 1976-1980.