



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

FACULTAD DE QUÍMICA

“VALIDACIÓN DE PROCESOS DE ESTERILIZACIÓN EN
AUTOCLAVES DE VAPOR EN LA INDUSTRIA
FARMACÉUTICA”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

PRESENTA:

MARLYN MARIANA RAMÍREZ ROBLES

ASESOR ACADEMICO
Q.B.P. HUGO HERIBERTO RODRÍGUEZ MEJORADA

ASESOR ADJUNTO
M. EN S.H.O. LIDIA SANDOVAL FLORES

ASESOR EXTERNO
Q.F.B. CARLOS CASTELLANOS VARGAS



TOLUCA DE LERDO, MÉXICO

MAYO 2014



UAEM | Universidad Autónoma
del Estado de México

Tercer Oficio No.
E.P./301/2014
9 de mayo de 2014

P. QFB. MARLYN MARIANA RAMÍREZ ROBLES
FACULTAD DE QUÍMICA, UAEM
P R E S E N T E

La Dirección de la Facultad de Química de la UAEM, comunica a Usted que el Jurado de su Evaluación Profesional, en la modalidad TESIS, estará formado por:

M. en SHO JUAN JAIME GUERRERO DÍAZ DEL CASTILLO
PRESIDENTE

QFB. HUGO HERIBERTO RODRÍGUEZ MEJORADA
VOCAL

Dra. MARIANA ORTIZ REYNOSO
SECRETARIO

M. en SHO LIDIA SANDOVAL FLORES
SUPLENTE

Sin más por el momento le envío un respetuoso saludo.

ATENTAMENTE
PATRIA, CIENCIA Y TRABAJO
"2014, 70 Aniversario de la Autonomía ICLA-UAEM"

M. en A. P. GUADALUPE OFELIA SANTAMARÍA GONZÁLEZ
DIRECTORA



C.c.p.- Expediente

www.uaemex.mx

Facultad de Química • Paseo Colón Esq. Paseo Tollocan • Toluca Estado de México
Tel. y Fax: 217-5109 y 217-3890 • fquim@uaemex.mx

Dedicatorias

A mi madre

*Que siempre vela por mí, y me ha guiado, paso a paso, por el
sendero del amor.*

Quien ha caminando a mi lado sin soltarme la mano

A ti madre

Que me has compartido conmigo tus alegrías, triunfos y fracasos.

A ti madre

Por ser mí ejemplo

Por darme la dicha de verte crecer

Por permitirme demostrarte que soy digna de tu amor.

A ti madre

Por proporcionarme las armas para lograr mis metas

Gracias.

Te amo

*A mi abuelo
Por transmitirme esa fuerza para luchar
Por enseñarme a mantenerme de pie,
A pesar de la tempestad,
Sin perder la nobleza y la humildad.*

*A mi abuela
Por el cariño y cuidado que me brinda
Por esa sonrisa imborrable que alegra mis días.*

*A mis tías Rocío y Rosario,
Por su apoyo incondicional.*

*A Carlos Castellanos
Por brindarme su amistad,
Y por contribuir a mi formación profesional y personal.*

*A mis asesores
Por transmitirme sus conocimientos y experiencias,
Por creer en mí,
Por el tiempo que me dedicaron
Y sobre todo, por ayudarme a dar este gran paso.*

*A cada uno de mis profesores de la
Universidad Autónoma del Estado de México
Por abrirme las puertas del conocimiento*

*A Laboratorios Mexicanos
Por la oportunidad de desarrollar este proyecto de tesis*

RESUMEN

El proceso de esterilización en la industria farmacéutica asegura los materiales utilizados en la producción de un medicamento parenteral, la técnica empleada con mayor frecuencia es la esterilización por medio de vapor a presión.

En el presente trabajo se describen las pruebas para la validación de ciclos de esterilización con vapor en una autoclave con el fin de demostrar la confiabilidad y constatar el cumplimiento de la regulación sanitaria.

En la primera etapa se evalúa que el autoclave sea capaz de controlar y mantener la temperatura de operación programada, determinando la distribución y comportamiento de temperatura a lo largo de la cámara.

La segunda etapa consiste en cuantificar las esporas de *Geobacillus stearothermophilus* del indicador biológico, los resultados obtenidos confirman el cumplimiento a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos y a las especificaciones declaradas por el fabricante de modo que aseguramos que los indicadores presentan un desafío al proceso de esterilización.

Posteriormente se realizan los ciclos de esterilización experimentales por triplicado de dos patrones de carga donde se estudia la influencia de los materiales en el perfil de temperatura, simultáneamente se ejecuta el desafío de los indicadores biológicos que toman un papel importante en la evaluación de la efectividad del proceso junto con el concepto de F_0 .

Los valores de F_0 que se obtienen en cada uno de los puntos estudiados, indican que el proceso brinda suficiente letalidad para eliminar las formas potencialmente resistentes de vida microbiana presentes en los materiales que conforman el patrón de carga.

Con los resultados obtenidos se demuestra que los procesos de esterilización evaluados generan resultados consistentes y reproducibles de acuerdo a las especificaciones establecidas; en consecuencia se considera validado.

INTRODUCCIÓN

El proceso de Validación se inicia con actividades de recopilación de información relacionada con el proceso como es calificación de instalaciones, equipos, existencia de procedimientos de operación y capacitación de los operadores.

Posteriormente se procede a elaborar el protocolo en donde se definen los objetivos específicos de las pruebas a efectuar, las responsabilidades de cada una de las áreas involucradas en la validación, se establecen las variables que se quieren monitorear y la secuencia de actividades, además de incluir los criterios de aceptación que no son otra cosa que la comparación de los resultados con parámetros ya establecidos o los resultados esperados.

En la actualidad se ha generado una gran aceptación e interés por los temas relacionados con seguridad y calidad de los productos farmacéuticos. Es por esto que día a día se recurre a la implementación de nuevas tecnologías y fórmulas farmacéuticas con el fin de desarrollar sistemas rigurosos de calidad que proporcionen y aseguren al consumidor un producto de alta calidad.

Adicionalmente, la industria farmacéutica debe velar por el total cumplimiento de la normatividad nacional, teniendo presente que los procedimientos deben estar validados para su implementación y cumplimiento de la legislación.

La validación de un proceso toma gran relevancia en él mismo, ya que es la demostración escrita y experimental con un alto grado de confianza de que un proceso específico arroja de forma consistente y permanente productos que poseerán las características de calidad predefinidas.

Uno de los procesos de producción más críticos en la industria farmacéutica es la de productos fabricados en condiciones asépticas. La gran mayoría de este tipo de medicamentos es de administración parenteral, los cuales han estado históricamente asociados con fallos en la esterilidad y el consecuente retiro de productos del mercado.

Independientemente del método utilizado para lograr la esterilidad de un producto, es indiscutible la importancia que tiene el equipamiento empleado. Es debido a esto que la calificación de los equipos involucrados y la validación de los procesos ejecutados en ellos, sean de sumo interés para garantizar la calidad y seguridad de los productos farmacéuticos parenterales.

Derivado de esta problemática surge el presente trabajo enfocado a la evaluación de calidad de los materiales empleados para la fabricación de productos parenterales con la implementación y la validación de la técnica de esterilización, para así asegurar que los materiales cuentan con las condiciones asépticas necesarias para poder llevar a cabo en ellas las operaciones de llenado de productos parenterales.

El método de esterilización sujeto a estudio es el de calor húmedo por medio de vapor a presión, ocupando un lugar fundamental las autoclaves.

Estos equipos son recipientes metálicos de paredes gruesas con cierre hermético para trabajar a alta presión. Emplean vapor de agua saturado. En condiciones ideales la presión de 15 libras permite que la cámara alcance una temperatura de 121 °C; estas

condiciones pueden destruir de 10 a 12 minutos todas las células vegetativas y esporas presentes en un volumen pequeño de muestra.

Dadas las características de los materiales y el equipo, es necesario ajustar factores críticos en el proceso como temperatura, presión y tiempo de exposición.

El control de las variables del proceso de esterilización juega un papel importante dentro de las características que le confieren la calidad a un medicamento.

Este estudio, es aplicable en diferentes ramos de la industria y de servicios en nuestra sociedad, como la industria alimenticia, farmacéutica, productos higiénicos, servicios hospitalarios, análisis clínicos, entre otros.

TABLA DE CONTENIDO

RESUMEN.....	v
INTRODUCCIÓN.....	vi
TABLA DE CONTENIDO.....	viii
ÍNDICE DE ECUACIONES.....	xii
ÍNDICE DE ILUSTRACIONES.....	xii
ÍNDICE DE TABLAS.....	xiv
CAPÍTULO 1. JUSTIFICACIÓN.....	1
CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES.....	2
CAPÍTULO 3. OBJETIVO.....	7
3.1 Objetivos generales.....	7
3.2 Preguntas de investigación.....	7
CAPÍTULO 4. MARCO TEÓRICO.....	8
4.1 Calidad en la industria farmacéutica.....	8
4.2 Control de Calidad.....	8
4.3 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).....	9
4.4 Buenas Prácticas de Fabricación.....	9
4.5 Validación.....	10
4.6 Validación y Calificación.....	11
4.7 Etapas de la validación de procesos.....	11
4.8 Protocolos.....	13
4.9 Aspectos generales de Microbiología.....	14
4.9.1 Morfología.....	15
4.9.2 Tinciones.....	15
4.9.3 Estructura bacteriana.....	16
4.9.4 Estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas.....	16
4.9.5 Estructura de la pared celular de las bacterias Gram negativas.....	17
4.9.6 Principales efectos del lipopolisacárido o endotoxina.....	17
4.9.7 Esporas.....	17
4.9.8 Control de crecimiento microbiano en la industria de insumos.....	18
4.9.9 Esterilización por vapor.....	18
4.9.10 Esterilización por calor seco.....	19
4.9.11 Esterilización con gases.....	20
4.9.12 Esterilización por radiación ionizante.....	20
4.9.13 Esterilización por Filtración.....	20

4.9.14	Indicadores biológicos	21
4.9.15	Indicador biológico auto contenido	21
4.9.16	Indicadores físico-químicos	22
4.10	Aspectos termodinámicos de los procesos de esterilización.....	22
4.10.1	Valores F, D, y Z.....	22
4.10.2	Definiciones.....	23
4.10.3	Tasa de letalidad	23
4.10.4	Valor F.....	24
4.10.4.1	Cálculo de F_0	25
4.10.4.2	El uso de F_0	26
4.10.4.3	Determinación del valor mínimo requerido de F_0	26
4.10.5	Cálculo de letalidad del proceso	27
4.10.6	Valor D	28
4.10.7	Cinética de inactivación microbiana.....	29
4.10.8	Determinación del valor D	30
4.10.8.1	Método de curva de sobrevivencia	31
4.10.8.2	Método de fracción negativa.....	32
4.10.8.3	Método Spearman-Karber	32
4.10.8.4	Método Stumbo-Murphy-Cochran.....	34
4.10.9	Valor Z.....	37
4.11	Validación de esterilización por vapor en autoclave en la industria farmacéutica	38
4.11.1	Ciclos de esterilización para materiales.....	39
4.11.2	Medición de la temperatura	40
4.11.3	Calificación de la autoclave	40
4.11.3.1	Calificación de diseño.....	40
4.11.3.2	Calificación de instalación	41
4.11.3.3	Calificación de operación.....	41
4.11.3.4	Calificación de desempeño.....	42
4.11.4	Validación del proceso de esterilización	43
4.11.5	Reto microbiológico	43
4.11.6	Reporte de validación.....	44
4.11.7	Mantenimiento del estado de validación	44
CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA.....		45
5.1	Tipo de estudio.....	45
5.2	Población y muestra	45
5.3	Criterios de inclusión	45
5.4	Criterios de eliminación	45

5.5 Criterios no inclusión	45
5.6 Variables del Estudio.....	45
5.7 Materiales y equipos de medición para el estudio	46
5.8 Procedimiento general.....	51
5.8.1 Calificación de diseño.....	52
5.8.2 Calificación de instalación	52
5.8.3 Calificación de operación.....	53
5.8.4 Descripción General del Autoclave.....	53
5.8.5 Estudio de distribución en cámara vacía	56
5.8.5.1 Número de termopares.....	56
5.8.5.2 Parámetros de operación	56
5.8.5.3 Calibración del equipo de medición	57
5.8.5.4 Ubicación de termopares.....	59
5.8.5.5 Control del equipo	60
5.8.5.6 Monitoreo de temperatura	60
5.8.5.7 Verificación de la calibración del equipo de medición	60
5.8.6 Recuento de la cuenta viable total.....	60
5.8.7 Determinación del valor requerido de F_0 del proceso.....	62
5.8.8 Estudio de penetración de calor	62
5.8.8.1 Número de termopares.....	62
5.8.8.2 Descripción de los patrones de carga.....	63
5.8.8.3 Empaquetado de la carga.....	64
5.8.8.4 Parámetros de operación	64
5.8.8.5 Calibración del equipo de medición	65
5.8.8.6 Ubicación de termopares e indicadores biológicos de uniformes.....	65
5.8.8.7 Ubicación de termopares e indicadores biológicos del equipo de llenado.....	66
5.8.8.8 Ubicación de termopares de distribución de temperatura	67
5.8.8.9 Ubicación de termopares e indicadores biológicos	67
5.8.8.10 Control del equipo	68
5.8.8.11 Monitoreo de temperatura	68
5.8.8.12 Control químico	68
5.8.8.13 Control biológico.....	68
5.8.8.14 Cálculo de letalidad	68
5.8.8.15 Verificación de la calibración del equipo de medición.....	69
5.8.8.16 Análisis estadístico	69
CAPÍTULO 6. RESULTADOS.....	70
6.1 Estudio de distribución en cámara vacía	70

6.1.1 Resultados de calibración de termopares.....	70
6.1.2 Control del equipo	71
6.1.3 Monitoreo de temperatura	71
6.1.4 Análisis estadístico	72
6.1.5 Verificación de la calibración de termopares.....	74
6.1.6 Recuento de esporas viables	75
6.2 Estudio de penetración de calor para la validación del patrón de carga de uniformes .	76
6.2.1 Resultados de calibración de termopares.....	76
6.2.2 Control del equipo	77
6.2.3 Monitoreo de temperatura	77
6.2.4 Control químico	80
6.2.5 Control biológico.....	81
6.2.6 Cálculo de letalidad	81
6.2.7 Análisis estadístico	83
6.2.8 Verificación de la calibración de termopares.....	86
6.3 Estudio de penetración de calor para la validación del patrón de carga de equipo de llenado	88
6.3.1 Resultados de calibración de termopares.....	88
6.3.2 Control del equipo	89
6.3.3 Monitoreo de temperatura	89
6.3.4 Control químico	92
6.3.5 Control biológico.....	93
6.3.6 Cálculo de letalidad	93
6.3.7 Análisis estadístico	95
6.3.8 Verificación de la calibración del equipo de termopares	98
CAPÍTULO 7. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN RESULTADOS	100
CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES.....	110
CAPÍTULO 9. RECOMENDACIONES	111
CAPÍTULO 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	112
CAPÍTULO 11. GLOSARIO	116
ANEXOS.....	117
ANEXO 1. Certificado del indicador biológico.....	117
ANEXO 2. Cálculo de rangos	118
ANEXO 3. Ejemplo de impresión del registro de temperatura y presión del autoclave	119

ÍNDICE DE ECUACIONES

Ecuación 1. Tasa de letalidad	24
Ecuación 2. Cálculo de F_0	25
Ecuación 3. Cálculo del valor requerido de F_0	26
Ecuación 4. Cálculo de letalidad de proceso.....	27
Ecuación 5. Cinética de inactivación microbiana.....	29
Ecuación 6. Cálculo del valor D a partir de la tasa de inactivación microbiana.....	30
Ecuación 7. Cálculo de valor D por curva de supervivencia	31
Ecuación 8. Valor de estimación de Spearman-Karber	33
Ecuación 9. Cálculo del valor D por el método Spearman-Karber.....	34
Ecuación 10. Cálculo del valor D por el método Stumbo-Murphy-Cochran	34
Ecuación 11. Estimación del valor D Stumbo-Murphy-Cochran por tiempo de exposición	34

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

Ilustración 1. Morfología de Microorganismos	15
Ilustración 2. Indicador biológico autocontenido.....	22
Ilustración 3. Área bajo la curva de un proceso de esterilización.	27
Ilustración 4. Valor D en papel semilogarítmico	29
Ilustración 5. Curva de supervivencia y Valor D	30
Ilustración 6. Determinación del valor Z	38
Ilustración 7. Parte frontal	46
Ilustración 8. Conexiones eléctricas y de comunicación.....	47
Ilustración 9. Entradas para conexión de módulos SIM.....	48
Ilustración 10. Conexiones de entrada del módulo SIM	48
Ilustración 11. Termómetro de resistencia de platino	49
Ilustración 12. Bloque de temperatura controlada	49
Ilustración 13. Termopar tipo T	49
Ilustración 14. Software Validator® 2000 versión 2.22.....	50
Ilustración 15. Indicador biológico	50
Ilustración 16. Diagrama de flujo del procedimiento general de estudio	51
Ilustración 17. Vista frontal del panel de control.....	54
Ilustración 18. Vista frontal del autoclave (área de carga).....	54
Ilustración 19. Vista posterior del autoclave (área de descarga-área aséptica).....	55
Ilustración 20. Vista lateral del autoclave del área técnica	55
Ilustración 21. Termopares y termómetro de resistencia de platino dentro del bloque de temperatura.	57
Ilustración 22. Conexión de componentes para calibración.....	58
Ilustración 23. Ubicación de termopares del estudio de distribución en cámara vacía	59
Ilustración 24. Diluciones para recuento de esporas viables	61
Ilustración 25. Ubicación de termopares e indicadores biológicos de uniformes para área aséptica	65
Ilustración 26. Ubicación de termopares e indicadores biológicos del equipo de llenado	66
Ilustración 27. Ubicación de termopares de distribución de temperatura (Validación de proceso).....	67
Ilustración 28. Error \pm incertidumbre de medición del estudio de distribución en cámara vacía	71
Ilustración 29. Monitoreo de temperatura del estudio de distribución en cámara vacía	71

Ilustración 30. Grafica de medias de termopares del estudio de distribución en cámara vacía	73
Ilustración 31. Gráfico de rangos.	73
Ilustración 32. Error \pm incertidumbre de medición de la verificación del estudio de distribución en cámara vacía	74
Ilustración 33. Calibración del equipo de medición de uniformes	77
Ilustración 34. Termopares de distribución de temperatura primer ciclo de uniformes	78
Ilustración 35. Termopares de penetración de temperatura primer ciclo de uniformes.....	78
Ilustración 36. Termopares de distribución de temperatura segundo ciclo de uniformes.....	79
Ilustración 37. Termopares de penetración de temperatura segundo ciclo de uniformes	79
Ilustración 38. Termopares de distribución de temperatura tercer ciclo de uniformes	80
Ilustración 39. Termopares de penetración de temperatura tercer ciclo de uniformes.....	80
Ilustración 40. Gráfico de letalidad acumulada primer ciclo de uniformes	82
Ilustración 41. Gráfico de letalidad acumulada segundo ciclo de uniformes.....	82
Ilustración 42. Gráfico de letalidad acumulada tercer ciclo de uniformes	83
Ilustración 43. Grafica de medias de uniformes	84
Ilustración 44. Grafico para carta de control de rangos de uniformes.....	85
Ilustración 45. Verificación de calibración del equipo de medición de uniformes.....	87
Ilustración 46. Calibración del equipo de medición de equipo de llenado	89
Ilustración 47. Termopares de distribución de temperatura primer ciclo de equipo de llenado	90
Ilustración 48. Termopares de penetración de temperatura primer ciclo de equipo de llenado	90
Ilustración 49. Termopares de distribución de temperatura segundo ciclo de equipo de llenado	91
Ilustración 50. Termopares de penetración de temperatura segundo ciclo de equipo de llenado	91
Ilustración 51. Termopares de distribución de temperatura tercer ciclo de equipo de llenado	92
Ilustración 52. Termopares de penetración de temperatura tercer ciclo de equipo de llenado	92
Ilustración 53. Gráfico de letalidad acumulada primer ciclo del equipo de llenado	94
Ilustración 54. Gráfico de letalidad acumulada segundo ciclo de equipo de llenado.....	94
Ilustración 55. Gráfico de letalidad acumulada tercer ciclo de equipo de llenado	95
Ilustración 56. Grafica de medias de equipo de llenado	96
Ilustración 57. Grafico para carta de control de rangos de equipo de llenado	97
Ilustración 58. Verificación de calibración del equipo de medición de equipo de llenado	99
Ilustración 59. Ubicación de temperatura máxima y mínima estudio de distribución en cámara vacía	101
Ilustración 60. Ubicación de temperatura máxima y mínima de distribución de uniformes ..	103
Ilustración 61. Ubicación de temperatura y letalidad máxima y mínima de uniformes	104
Ilustración 62. Ubicación de temperatura máxima y mínima de distribución de equipo de llenado	106
Ilustración 63. Ubicación de temperatura y letalidad máxima y mínima de equipo de llenado	107

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Ejemplo de cálculo de la tasa de letalidad acumulada	28
Tabla 2. Datos para calcular el valor D por curva de supervivencia	31
Tabla 3. Datos para calcular el Valor D por del método Spearman-Karber	33
Tabla 4. Tabla de datos para calcular el valor D por el método Stumbo-Murphy-Cochran	35
Tabla 5. Número de termopares para monitoreo de distribución de temperatura	56
Tabla 6. Parámetros de operación para estudio de distribución de temperatura	56
Tabla 7. Puntos de temperatura para calibración del equipo de medición.....	57
Tabla 8. Criterio de aceptación de los sensores para la calibración de termopares	58
Tabla 9. Número de termopares para monitoreo de penetración de temperatura	63
Tabla 10. Parámetros de operación para estudio de penetración de temperatura del ciclo de uniformes.....	64
Tabla 11. Parámetros de operación para estudio de penetración de temperatura del ciclo de equipo de llenado	64
Tabla 12. Calibración de termopares del estudio de distribución en cámara vacía	70
Tabla 13. Resumen estadístico del estudio de distribución en cámara vacía.....	72
Tabla 14. Verificación de la calibración de termopares del estudio de distribución en cámara vacía.....	74
Tabla 15. Cálculo de esporas viables de indicadores biológicos.....	75
Tabla 16. Calibración del equipo de medición de uniformes	76
Tabla 17. Letalidad acumulada de uniformes.....	81
Tabla 18. Resumen estadístico de letalidad de uniformes	81
Tabla 19. Resumen estadístico de termopares de distribución de temperatura de uniformes	83
Tabla 20. Resumen estadístico de termopares de penetración de temperatura de uniformes	84
Tabla 21. Verificación de la calibración del equipo de medición de uniformes	86
Tabla 22. Calibración del equipo de medición de equipo de llenado	88
Tabla 23. Letalidad acumulada de equipo de llenado	93
Tabla 24. Resumen estadístico de letalidad de equipo de llenado	93
Tabla 25. Resumen estadístico de termopares de distribución de temperatura de equipo de llenado	95
Tabla 26. Resumen estadístico de termopares de penetración de temperatura de equipo de llenado	96
Tabla 27. Verificación de la calibración del equipo de medición de equipo de llenado	98

CAPÍTULO 1. JUSTIFICACIÓN

Laboratorios Mexicanos es una empresa que se dedica a la fabricación y venta de productos parenterales en ampollas de vidrio y frascos ampolla de vidrio.

Laboratorios Mexicanos debe cumplir con la normatividad, en particular el cumplimiento a la norma oficial mexicana NOM-059-SSA1-20013, Buenas Prácticas de fabricación de medicamentos.

La norma oficial mexicana NOM-059-SSA1-20013 cita en el apartado 9 que la validación es un elemento esencial para el cumplimiento de la Buenas Prácticas de Fabricación, para demostrar que la fabricación de los medicamentos cumple las características de funcionalidad, consistencia y robustez para asegurar la calidad de los medicamentos.

La fabricación de productos parenterales se lleva a cabo mediante procesos asépticos. Estos procesos son una combinación de esterilización por filtración del producto, la esterilización de los contenedores, y el material de fabricación así como el montaje aséptico del producto en el envase primario en un medio ambiente que es microbiológicamente controlado.

Este proceso de esterilización se considera como paso crítico en la Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2013 por lo que se ha discutido sobre su evaluación para tener una visión más objetiva del impacto que tiene sobre el desarrollo de procesos asépticos.

Resultando de ello se busca establecer los lineamientos para la validación de procesos de esterilización en Laboratorios Mexicanos de los materiales utilizados en la fabricación de los mismos.

Los requerimientos de regulación con respecto a la necesidad de validar son claros, pero pocas guías hablan de cómo llevarlas a cabo. Una parte de la dificultad es el hecho de que cada proceso es único así como las estrategias, herramientas y metodología empleados.

CAPÍTULO 2. ANTECEDENTES

La presencia de los medicamentos es tan cotidiana y necesaria que no se reflexiona sobre su importancia en la vida de los seres humanos. ¿Cómo sería la sociedad sin medicamentos?. Las sociedades en sus orígenes lograron sobrevivir a muchas enfermedades que les aquejaba estudiando la naturaleza y obteniendo conocimientos, preparando sus propios remedios a base de plantas y otros objetos de lo que en un futuro se conocería como Ciencias de la Farmacia (Secretaría de Salud, 2010). Cualquiera que fuera la causa el uso terapéutico de los remedios se convirtió en una acción consciente pero no reflexiva. (Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura, 1999)

Unas de las culturas de la sociedad antigua que dieron un impulso a la Farmacia fue la sumeria. Un médico anónimo que vivió al final del tercer milenio antes de nuestra era consignó por escrito recetas médicas de la época en una tablilla de arcilla, convirtiéndose en uno de los testimonios más antiguos sobre el uso y preparación de medicamentos (Noah Kramer, 1985).

Otro testimonio es el *Papiro de Ebers*, fue redactado en el antiguo Egipto, cerca del año 1500 antes de nuestra era; está fechado en el reinado de Amenhotep I, de la dinastía XVIII. Descubierto por Edwin Smith en 1862. En Egipto existía una práctica de la farmacia a través de especialistas en la elaboración y preparación de medicamentos. El campo de la Farmacia y la Medicina fue heredado a los pueblos Griego y Romano quienes lo enriquecieron y transmitieron a otras civilizaciones (Secretaría de Salud, 2010)

Con el desarrollo de las sociedades la demanda de estos remedios motivó la aparición de gente especializada en su elaboración quienes dieron un fuerte impulso al conocimiento de fármacos y al refinamiento de técnicas para obtener medicamentos.

Durante los siglos VII y VIII, los árabes conquistaron casi todo el antiguo mundo civilizado. En el campo de las ciencias médicas los científicos árabes perfeccionaron los aparatos de laboratorio y le dieron un contenido empírico a las prácticas de elaboración de medicamentos (Vega Cruz, 2008).

En la civilización árabe destaca por su enorme influencia en las ciencias farmacéuticas: Abu Ali al Husain Ibn Abd-Allah Ibn Sina, mejor conocido como Avicena. Nacido en Persia en el año 980 de nuestra era, su obra principal la escribió a los veinte años de edad y se titula *Quantum fi altibbs* cuya traducción al español sería *Canon de la Medicina* (Cameron Gruner, 1970). Avicena poseía una idea clara de la influencia de los coadyuvantes para la óptima acción de los medicamentos. Afirmaba:

“...debes añadirle (el fármaco) cualquier cosa para aumentar su eficacia. Si no puede penetrar se debe facilitar su deglución y también su tránsito intestinal...” (Secretaría de Salud, 2010)

El texto anterior hace evidente una doble función del médico farmacéutico, además de recetar los medicamentos los debía preparar, no solo con conocimiento de causa sino haciendo evidente su habilidad en el manejo de las prácticas farmacéuticas.

La obra de Avicena ejerció una gran influencia sobre la Medicina y la Farmacia de los países de Oriente y Occidente provocando una división de actividades y responsabilidades entre la

Farmacia y la Medicina ocurriendo una separación de manera gradual, que originó un sistema público de salud donde la Farmacia tenía lugar propio.

En el siglo IX en Bagdad, se erigieron en los alrededores de la ciudad las primeras tiendas especializadas en venta de medicamentos llamadas farmacias. Los locales eran atendidos por dependientes y expendedores educados en el arte de preparar medicamentos. En ese momento, la Farmacia aparece como una actividad y arte independiente de la medicina, pero ligada a ella los farmacéuticos y las farmacias eran examinados por las respectivas autoridades sanitarias (Vega Cruz, 2008).

Sabur-Ebn-Sahl, Director de la Escuela médica de Gundischapur escribió el primer *Grabadin*, código farmacéutico precursor de la farmacopea, para precisar las actividades relacionadas con la producción de medicamentos (Hugo Zaragoza, 2003).

La farmacia fue ganando terreno en busca de una profesionalización; ésta llegó cuando el emperador Federico II, gobernante del imperio Romano de Occidente, emitió en 1240 un edicto un escrito conocido como el *Edicto de Palermo* y llegó a ser catalogado como la *Carta magna* de la profesión farmacéutica. Dicho edicto incluía dos regulaciones que podemos destacar:

- Supervisión oficial de la práctica farmacéutica
- Obligación de preparar medicamentos confiables de calidad adecuada y uniforme

Con el edicto se delimitó la profesión farmacéutica de la profesión médica en el imperio Romano.

La Farmacia en México

Durante los siglos I al IV Teotihuacán fue el centro cultural, político, económico, social y religioso más importante de Mesoamérica. La cultura teotihuacana estuvo en contacto con otras aldeas como Cuicuilco y Tlatilco por lo que recogieron parte de su bagaje cultural y heredaron los conocimientos de pueblos anteriores como los Olmecas. El testimonio más importante sobre la actividad médica y farmacéutica es el famoso mural del templo de Tepantitla, se observan escenas que hacen referencia a procesos quirúrgicos, padecimientos que deformaban la estética humana y aplicaciones terapéuticas. En las representaciones del mural resalta como elemento cultural el uso de las plantas en la vida diaria y en la preparación de remedios (Francisco Sánchez & Islas Pérez, 1997).

Estudios e investigaciones sobre las culturas prehispánicas, han revelado aspectos ignorados del maravilloso pasado cultural de la sociedad mexicana. Los estudios arqueológicos, antropológicos y etnohistóricos perciben desacuerdo sobre los aspectos sociales, políticos y religiosos del pueblo mexicana, debido a la escasa información sobre estas actividades y la que pudo haber existido fue destruida durante la conquista. Pese a la destrucción lograron salvarse varios códices; estos y textos en náhuatl escritos en alfabeto latino recopilados poco después de la conquista son testimonios invaluables que reflejan la visión del mundo de un pueblo con identidad propia.

Estas fuentes secundarias y los hallazgos arqueológicos permiten conformar de manera racional un panorama del Imperio mexicana. Estos textos refieren la existencia de los *Calpulli* donde se realizaba la distribución de oficios u ocupaciones, en cada *Calpulli* había escuelas donde se aprendían actividades militares y religiosas llamadas *Calmecac*. Se sabe de la impartición de conocimientos en los *Calmecac* relacionados con los medicamentos o

Panamachiliztli, también se enseñaba el *Pamachiliztli*, un espacio dedicado al estudio de la medicina. Esto generó una especialización en las actividades intelectuales y manuales relacionados con el cuidado y preservación de la salud. Los *Titici* eran los médicos que conocían los problemas de salud, el *Tepoztecpahtiani* especialista en el tratamiento de fracturas, *Texpatiani* se dedicaba al cuidado de los ojos, el *Panamacani* era el especialista dedicado a la comercialización, preparación y dispensación de remedios y medicamentos.

El *Panamacani* preparaba remedios, sabía clasificar, conservar y renovar los medicamentos por la formación recibida. Recolectaba raíces, hojas y frutos, preparaba verdaderas fórmulas magistrales como jarabes, aceites, emulsiones, polvos, pastas, ungüentos y emplastos. El *Panamacani* era algo más que un herbolario o comerciante de remedios ante el pueblo y ante las leyes, realizaba una actividad socialmente definida reflejando en su oficio el estado de la Farmacia dentro de la sociedad mexicana (Francisco Sánchez & Islas Pérez, 1997).

Lo anterior lleva a pensar que la práctica farmacéutica de los pobladores de Mesoamérica durante la segunda mitad del siglo XVI, tenía un bagaje respetable de conocimientos sistematizados como para constituir un oficio con personalidad y carácter propios. Por tal motivo, el conjunto de aptitudes exigidas en la preparación de medicamentos requerían de una formación específica y sistemática que colocaban al *Panamacani* en un nivel social diferente.

Con la consumación de la conquista de Tenochtitlán en el siglo XVI se inició de manera tajante el legado cultural de los conquistadores españoles. La farmacia mexicana fue sustituida por los conocimientos traídos de Europa. Los documentos, códices conservados, la investigación de fray Bernardino y el protomédico Francisco Hernández, permitieron conservar parte de saber mexicana sobre la Medicina y Farmacia (Sanchez Ruiz, Tejeda Rosales, Sanchez Tejeda, & Sanchez Tejeda, 2012).

La transmisión de estos conocimientos se realizó por la conversión del cristianismo de los indígenas, tal es el caso del mexicano Martín de la Cruz, autor del primer libro de farmacología y herbolario del continente americano, titulado "*Libellus de medicinalibus indorum herbis*", donde están descritos algunos conocimientos de la Medicina y Farmacia náhuatl (Secretaría de Salud, 2010).

Una de las primeras disposiciones sanitarias de la recién fundada Nueva España, fue dictada en 1527 y consistió en imponer multas a quienes ejercían la medicina sin autorización. En 1535 la reina de España ordenó mediante una Cédula Real al virrey de la nueva España que ninguna persona ejerciera como boticario si no contaba con estudios universitarios, para supervisar el cumplimiento a esta cédula se creó una institución llamada Protomedicato, examinaba y otorgaba licencias para ejercer a médicos, cirujanos y boticarios.

En 1706 se publicó la obra *Palestra Farmacéutica* de Palacios una especie de manual del boticario, fue la primera farmacopea utilizada, influyó desde su aparición hasta 1739, cuando el Protomedicato Español editó la *Farmacopea Matritense*, impuesta obligatoriamente, posteriormente surgieron otras obras como la *Farmacopea Natural*. El reglamento de la práctica farmacéutica en la Nueva España contemplaba mecanismos de regulación, vistas ordinarias e inspecciones sanitarias y perduró hasta principios del siglo XIX. Consumada la Independencia 1821, se publicó el primer *Formulario Magistral* y *Memorial Farmacéutico de Garssicourt*, considerado la primera farmacopea nacional del México Insurgente. Fue hasta 1833 que se creó el *Establecimiento de Ciencias Médicas* y por fin la carrera de Farmacéutico tras el decreto del 23 de octubre expedido por el Presidente de la República,

doctor Valentín Gómez Farías. En 1841 se creó el Consejo Superior de Salubridad un nuevo órgano encargado de la salud pública: su función principal referente a la Farmacia era restringir el ejercicio únicamente a “profesores” autorizados (Vega Cruz, 2008).

El Consejo Superior de Salubridad publicó de la primera Farmacopea Nacional en 1846. A principios de la década de los setenta se forma la Sociedad Farmacéutica Mexicana que publica la Nueva Farmacopea Mexicana de 1874. La segunda edición nació en 1884. La trascendencia de la obra fue tal que se declaró que los medicamentos galénicos y oficinales se fabricaran “conforme a la farmacopea de la Sociedad Mexicana de Farmacia”. Con este pronunciamiento se oficializó la Farmacopea Mexicana. Sin embargo el Código Sanitario de 1898 permitía el ejercicio libre de la farmacia por cualquier ciudadano sin tener estudios profesionales (R. Ortiz, Puerto S., & Aceves P., 2008)

En 1984 entra en vigor la Ley General de Salud que da las condiciones para la integración de una regulación en la elaboración de medicamentos junto con seis reglamentos que simplifican la regulación que existía hasta entonces, el proceso llega hasta la elaboración de las normas técnicas hoy llamadas normas oficiales mexicanas (Secretaría de Salud, 2001-2006).

En el año 2001 se crea la Comisión Federal Contra Riesgos Sanitarios, que tiene como objetivo el ejercicio de las atribuciones de regulación, control y fomento sanitarios en materia de medicamentos y otros insumos para la salud. En 1998 se publica en el Diario Oficial de la Federación la principal referencia técnica en manufactura de medicamentos en México, NOM-059-SSA1-1993, Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos, que trae diversos desafío a las empresas que quieran comercializar medicamentos en México (Martínez Flores, 2009).

El 22 de julio del 2013, se publica la actualización a la Norma Oficial Mexicana: NOM-059-SSA1-2013, Buenas Prácticas de Fabricación de Medicamentos. La Norma Oficial Mexicana establece los requisitos mínimos necesarios para el proceso de fabricación de los medicamentos para uso humano comercializados en el país, con el objeto de garantizar la eficacia, seguridad y calidad de los medicamentos al consumidor (Secretaría de Salud, 2013). Esta Norma se caracteriza por citar referencias internacionales en el apartado 9.15. Guías para la calificación y validación, donde indica el uso de guías nacionales e internacionales descritas en la bibliografía. Lo anterior traducido claramente a un marco regulatorio más estricto, con tendencia a la homologación con autoridades sanitarias internacionales e impulsar el fortalecimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación y robustecer la capacidad institucional para gestión en regulación (Arriola Peñalosa, 2013).

En seguida se mencionan de forma general las guías citadas en la Norma: Normas sobre medicamentos en la Unión Europea (*EudraLex*), guías de Buenas Prácticas de Manufactura del Programa de Cooperación de Inspección Farmacéutica (*Pharmaceutical Inspection Co-Operation Scheme, PIC/S*), Reportes Técnicos de la Organización Mundial de la Salud (*World Health Organization*), Publicaciones de la FDA (por su siglas en inglés *U.S. Foods and Drugs Administration*) y guías ICH (*The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*).

La norma establece un proceso de gestión de calidad basado en un sistema documental, este esfuerzo se traduce en las Buenas Prácticas de Manufactura cuya finalidad es demostrar que el producto o servicio final cumple con un conjunto de lineamientos, parámetros de calidad y actividades destinadas que aseguren que los productos elaborados

tienen y mantienen la identidad, pureza, concentración, potencia, inocuidad y otras propiedades químicas, físicas, biológicas o del proceso de fabricación que influyen en su aptitud para producir el efecto para el cual se destina.

Para demostrar el dominio de la calidad surge el proceso de Validación, que consiste en establecer la evidencia documentada que demuestra con alto grado de confiabilidad que un proceso específico producirá de forma consistente y reproducible productos que reúnan las características de calidad especificadas (Service, 2008).

CAPÍTULO 3. OBJETIVO

3.1 Objetivos generales

- Establecer los requisitos necesarios para demostrar que un proceso de esterilización cumple con las Buenas Prácticas de Manufactura.
- Establecer los documentos y ensayos mínimos necesarios para demostrar la eficiencia de los procesos de esterilización en autoclaves de vapor a través de la validación.
- Establecer la evidencia documental de la efectividad de los procesos de esterilización.

3.2 Preguntas de investigación

- ¿La validación de los procesos de esterilización es el método más fiable para demostrar que un proceso cumple con las Buenas Prácticas de Manufactura?
- ¿Cuál es la relevancia o importancia de los nombrados puntos fríos?
- ¿Cómo se interpreta el valor de letalidad F_0 ?
- ¿Cómo influye la carga en el proceso de esterilización?
- ¿Cómo influye el tiempo en el proceso de esterilización?
- ¿Cuáles son los factores relevantes del proceso de esterilización?
- ¿Por qué es importante el uso de indicadores biológicos?
- ¿Cuál es la diferencia entre validación y calificación?
- ¿Cuáles son las variables del control del proceso?

CAPÍTULO 4. MARCO TEÓRICO

4.1 Calidad en la industria farmacéutica

Para cualquier empresa es de suma importancia contar con sistemas que demuestren que el producto o servicio final es de calidad. Esto toma una relevancia aún mayor en la industria farmacéutica, en donde un medicamento que no cuente con especificaciones preestablecida para garantizar su aptitud de uso puede tener consecuencias sobre la salud del consumidor.

La calidad se caracteriza por ser una herramienta administrativa que forma parte integral en las diferentes etapas de producción y no es algo que meramente se somete a prueba en el producto terminado (Ortíz Gómez, 2008)

A fin de asegurar la calidad de un producto se debe tener atención cuidadosa a un número de factores que incluyen la infraestructura, materiales, diseño de procesos, control de procesos y pruebas analíticas. Con esto se asegura que el producto no sólo satisface las especificaciones finales, sino que se ha hecho por los mismos procedimientos y en las mismas condiciones cada vez que se elabora.

Todas estas comprobaciones se deben hacer mediante procedimientos aprobados, en los que se describan todas las tareas efectuadas a lo largo del proceso de fabricación y control en sus diferentes etapas.

4.2 Control de Calidad

El control de calidad es una parte de las Buenas Prácticas de Manufactura que agrupa las normas acerca de organización, documentación y procesos como muestreo, fabricación, análisis y evaluación de todos los factores que intervienen en el proceso productivo, asegurando que cada proceso es llevado a cabo bajo las condiciones que garantizan que los materiales y productos son liberados para su uso, venta o suministro con un alto nivel de calidad que ha sido juzgado como satisfactorio. El control de calidad no está confinado a operaciones de laboratorio, debe estar involucrado en todas las decisiones concernientes a la calidad del producto.

Debe existir una unidad de control de calidad independiente del departamento de producción, que permita realizar evaluaciones objetivas en pro del mejoramiento continuo. (Secretaría de Salud, 2013).

El departamento de control de calidad como un todo, debe tener otras obligaciones tales como establecer, validar e implementar todos los procedimientos de control de calidad a evaluar, mantener y almacenar los estándares de referencia para sustancias; asegurar el correcto etiquetado de recipientes de materias primas y productos; asegurar que la estabilidad de los ingredientes activos y los productos estén monitoreados; participar en quejas relacionadas con la calidad del producto. Todas estas operaciones deben ser llevadas a cabo en concordancia con los procedimientos y registros escritos.

La evaluación del producto terminado debe abarcar todos los factores relevantes, incluyendo las condiciones de producción, los resultados de inspección en proceso, la documentación

de manufactura incluyendo el empaque, el cumplimiento con la especificación para el producto terminado y una evaluación del empaque final.

De esta forma el control de calidad se puede definir como el sistema que tiene como finalidad evaluar una producción uniforme para colocar en el mercado productos cuyas especificaciones correspondan a lo ofrecido, siendo el elemento que en las plantas industriales favorece el incremento de la eficiencia y productividad.

4.3 Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM)

La Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM) es un documento regulatorio de carácter técnico expedido por la Secretaría de Salud que consigna los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y biotecnológicos (Barajas González, 2011).

El Reglamento de Insumos para la Salud en su título primero, artículo 2, fracción IX, define a la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos como:

“al documento expedido por la Secretaría que consigna los métodos generales de análisis y los requisitos sobre identidad, pureza y calidad de los fármacos, aditivos, medicamentos, productos biológicos y demás insumos para la salud” (Secretaria de Salud, 2012).

La Ley General de Salud cita en su artículo 195 la obligatoriedad de la FEUM:

“La Secretaría de Salud emitirá las normas oficiales mexicanas a que deberá sujetarse el proceso y las especificaciones de los productos a que se refiere este Título. Los medicamentos y demás insumos para la salud estarán normados por la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos” (Secretaria de Salud, 2014).

Así mismo los artículos 200 y 258 indican que los laboratorios de medicamentos o productos biológicos para uso humano, deben poseer y cumplir con lo establecido la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

En México la Secretaría de Salud ejerce las atribuciones de regulación, control y fomento sanitario a través de la Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), siendo una de sus funciones realizar el control de los medicamentos y los insumos relacionados al mismo bajo el cumplimiento de la FEUM, para asegurar que los productos que lleguen al consumidor cumplan con los requisitos de calidad que aseguren su eficacia y seguridad (Barajas González, 2011).

4.4 Buenas Prácticas de Fabricación

Las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) se deben a una historia de accidentes relacionados con la falta de inocuidad, pureza y eficacia de alimentos y/o medicamentos. Los primeros antecedentes datan de 1906 en Estados Unidos y se relacionan con la aparición del libro "*La Jungla*" de Upton Sinclair que describía las condiciones de trabajo imperantes en la industria frigorífica. Así mismo precede la muerte de varias personas que recibieron suero antitetánico contaminado preparado en caballos, que provocó difteria en los pacientes tratados. Tras la repercusión de estos hechos el presidente Roosevelt aprueba la Ley de Pureza de Drogas y Alimentos en 1906.

Varios años más tarde Watkins trataba de encontrar un diluyente adecuado para la sulfanilamida, utilizó dietilenglicol, sustancia altamente tóxica que produjo la muerte de 107 personas en un caso similar. Como consecuencia se promulgó la Ley Federal de Alimentos, Medicamentos y Cosméticos en 1938, la cual daba a las autoridades sanitarias de examinar todos los nuevos medicamentos antes de ser introducidos en el mercado.

En 1953 el laboratorio farmacéutico *Chemie Grünenthal* sintetiza un antiemético llamado talidomida con efectos teratogénicos, produjo una alerta sanitaria que registró más de mil casos. Este hecho impulsó el surgimiento de la enmienda Kefauver-Harris que menciona por primera vez el término de Buenas Prácticas de Manufactura. El 20 de Junio de 1963 da a conocer en el diario oficial del gobierno federal de los Estados Unidos de la primer publicación de Buenas Prácticas de Fabricación (GMP por sus siglas en Inglés *Good Manufacturing Practices*) (Melamud, 2009).

Buenas prácticas de fabricación (BPF) son una herramienta de aseguramiento de calidad mediante la cual confirma y asegura que los productos están consistentemente controlados y fabricados con estándares de calidad apropiados para el uso planeado y como es requerido para su comercialización.

Las buenas prácticas de fabricación son dirigidas primariamente a disminuir riesgos inherentes en cualquier etapa de la producción farmacéutica, que puedan alterar la calidad del producto final. El objetivo es llegar a la prevención de dos tipos de riesgos: contaminación cruzada y confusiones causadas por mal etiquetamiento en los contenedores o recipientes (WHO, 2007).

4.5 Validación

La Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2013, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos, cuyo objetivo es establecer los requisitos mínimos necesarios que se deben cumplir durante el proceso de fabricación de los medicamentos que garantice la calidad de los mismos, menciona en su apartado número 9 lo siguiente:

“Un elemento esencial para el cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación es la validación, que nos permite demostrar que la fabricación de los medicamentos cumple con las características fundamentales de funcionalidad, consistencia y robustez, para asegurar la calidad de los medicamentos” (Secretaría de Salud, 2013)

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria, para todos los establecimientos dedicados a la fabricación y/o importación de medicamentos comercializados en el país con el objeto de proporcionar medicamentos de calidad al consumidor.

La validación es un término utilizado en la industria farmacéutica para declarar que un proceso ha sido objeto de un escrutinio tal que el resultado pueda ser garantizado (Hojo, 2004).

El objetivo de la validación es demostrar que un proceso tiene la capacidad de proporcionar de forma consistente y reproducible, productos homogéneos de acuerdo con especificaciones establecidas; para ello es imprescindible el conocimiento profundo del proceso, a fin de identificar los puntos críticos que puedan incidir en la calidad del producto.

Si bien es un requisito normativo, un fabricante puede decidir validar un proceso para mejorar la calidad de un producto reduciendo las causas de variabilidad que pueden ser causantes de rechazos o incumplimiento, prevenir fallas potenciales a especificaciones, unificar los procedimientos de trabajo, estandarizar operaciones, reducir mermas, reducir costos, reducir tiempos de fabricación o mejorar la satisfacción del cliente.

En general la validación es el mecanismo o sistema que utiliza el fabricante para planificar y controlar las actividades de un proceso de fabricación.

4.6 Validación y Calificación

El significado de calificación y validación se utilizan a menudo de forma indiferente, llevando frecuentemente a confusiones. A continuación se definen ambos:

Calificación: Evaluación de las características de los elementos del proceso a través de pruebas basadas en el conocimiento científico (Secretaría de Salud, 2013).

La calificación es la acción de demostrar documentalmente que una instalación, sistema, equipo, persona o proveedor cumple con los requerimientos previamente establecidos.

La calificación es parte de la validación, pero solo evalúan variables aisladas del sistema o proceso, que por sí solos no constituyen la validación del proceso.

Validación: Evidencia documental generada a través de la recopilación y evaluación de los datos obtenidos en la calificación y las pruebas específicas, basadas en el conocimiento del proceso, sistema o método, para demostrar funcionalidad, consistencia y robustez (Secretaría de Salud, 2013).

La documentación generada de la validación debe proporcionar un alto grado de confianza de que un proceso específico, produce consistentemente un producto que cumple sus especificaciones de calidad predeterminadas.

La intensidad de ambas es la misma, el proceso (validación) y el equipo (calificación) deben ser reproducibles, cumplir con los atributos establecidos, estado, condiciones y deben estar bien documentados.

En resumen, los equipos e instalaciones son calificados y los procesos y sistemas son validados.

4.7 Etapas de la validación de procesos

Dado que un proceso es la interacción controlada de componentes, equipos, instalaciones, procedimientos, personal, sistemas críticos, sistemas documentales y sistemas computacionales, es imprescindible un conocimiento profundo a fin de realizar un análisis de riesgos y detectar los puntos críticos que puedan incidir en la calidad del producto para establecer requisitos previos.

Para comprender los requerimientos normativos se deben considerar modelos para la validación de los procesos, así como las etapas que comprenden. A continuación se puede visualizar una serie de actividades o etapas propias de la validación (Pluta, 2009):

Hay tres etapas principales que podemos identificar en la figura anterior estos son los más utilizados en la industria:

- Calificación de Instalación (CI)
- Calificación de Operación (CO)
- Calificación de Desempeño (CD)

Recientemente se ha implementado una cuarta etapa (CDi) “Calificación de Diseño”.

Calificación del diseño: Evidencia documentada que demuestra que el diseño propuesto de las instalaciones, sistemas y equipos es conveniente para el propósito proyectado (Secretaría de Salud, 2013).

En esta etapa se definen los requerimientos del usuario y del producto, las especificaciones y descripciones de los equipos. Es una etapa de organización para conocer como las instalaciones, equipo o sistema cubre las necesidades de la producción así como el impacto a los atributos y controles de proceso del producto. Constituye una evidencia documentada de que la calidad es considerada desde su diseño.

Si la instalación, sistema o equipo ya se encuentra en operación, puede obviarse la Calificación del Diseño.

Calificación de instalación: Evidencia documentada de que las instalaciones, sistemas, y equipos se han instalado de acuerdo a las especificaciones de diseño previamente establecidas (Secretaría de Salud, 2013).

Incluirá la documentación completa que demuestra que el equipo está instalado conforme con el diseño aprobado previamente y las especificaciones técnicas, normas, códigos y reglamentaciones.

La importancia de este paso está en la verificación y comparación de las características diseñadas para el equipo frente a las instaladas. Cada uno de los componentes principales se debe enlistar como son:

- Especificaciones (operacionales, eléctricas)
- Identificación del equipo, nombre, número de serie
- Conexión a servicios (vapor, agua, aire comprimido, etc.)
- Programas y protocolos de mantenimiento y limpieza
- Recomendaciones del fabricante
- Lista de refacciones y partes de recambio
- Planos y diagramas de instalación

En resumen, una calificación de instalación aceptable significa que las instrucciones han sido leídas, comprendidas y el equipo ha sido debidamente instalado, es decir que existe conformidad pero todavía no se ha puesto en servicio o funcionamiento.

Calificación de operación: Evidencia documentada que demuestra que el equipo, las instalaciones y los sistemas operan consistentemente, de acuerdo a las especificaciones de diseño establecidas (Secretaría de Salud, 2013).

Después de la calificación de la instalación es necesario determinar si el equipo o sistema trabaja como se estableció en la calificación de diseño entre los márgenes operativos.

Son ensayos en campo es decir con la instalación, equipo o sistema en funcionamiento con las condiciones normales de trabajo así como condiciones de trabajo escalonadas de capacidad máxima y mínima, alarmas, paros de emergencia.

Busca establecer mediante pruebas, mediciones y retos que el equipo funciona consistentemente de acuerdo con las especificaciones funcionales dentro de los límites determinados y cumpliendo las especificaciones.

Todas las características importantes de control se deben incluir en esta etapa.

Calificación de desempeño: Evidencia documentada de que las instalaciones, sistemas, y equipos se desempeñan cumpliendo los criterios de aceptación previamente establecidos (Secretaría de Salud, 2013).

Demuestra por medio de evidencia objetiva que una operación, bajo parámetros establecidos, producen de manera consistente un producto que cumple con todos los requerimientos predeterminados repetitivamente, para cada una de las localizaciones y situaciones previstas (condiciones de operación normal y escalonada).

Es importante mencionar que las instalaciones, equipos o sistemas no pueden ser utilizados para la producción si la calificación y validación no se han completado. Esto incluye no sólo los equipos de proceso, sino también equipos de prueba y de soporte. La NOM-059-SSA1-2013 especifica en la sección 9.6.5. que no se podrá continuar con la siguiente etapa de calificación, sin antes haber concluido satisfactoriamente la precedente.

Una vez concluidas todas las etapas de calificación, el proceso donde intervienen los equipos o sistemas, podrá ser validado.

El proceso de validación se inicia con la recopilación de la información relacionada con el proceso, como procedimientos, capacitaciones de operadores, evaluaciones de riesgos potenciales. Posteriormente se procede a elaborar los protocolos en donde se definen las variables del proceso que se requieren monitorear (presión, temperatura, concentración, peso, etc.) además de incluir los criterios de aceptación o especificaciones que no son otra cosa que la comparación de resultados con los niveles permisibles o los resultados esperados.

4.8 Protocolos

Un protocolo es un plan escrito de las actividades de validación o calificación que se deben documentar, incluye las características del equipo, instalación, sistema o proceso a calificar o validar, pruebas con especificaciones o parámetros previamente establecidos, etapas involucradas, puntos de decisión o control sobre los resultados obtenidos.

Los protocolos deben ser organizados, permiten un seguimiento con secuencia lógica y evalúa la función principal de los equipos (Chapman, y otros, 2000). Estos documentos pueden ser combinados o mantenerse como entidades individuales en función de la filosofía de la empresa y la complejidad de los equipos, instalaciones, sistemas o procesos.

Antes de su ejecución, el protocolo debe ser revisado por el usuario y aprobado finalmente por el responsable del más alto nivel jerárquico de la Unidad de Calidad. Una vez que el protocolo está aprobado, se lleva a cabo la ejecución del mismo.

Debe prepararse un reporte que haga referencia cruzada al protocolo correspondiente, donde se discuta sobre resultados obtenidos, describiendo cualquier desviación o no conformidad observada, incluyendo recomendaciones para corregir deficiencias o mejoras. Los reportes deben revisados ser al menos por el usuario y aprobados por el responsable del más alto nivel jerárquico de la Unidad de Calidad.

Los informes o reportes deben ser elaborados posteriores a la ejecución de los protocolos.

Los reportes pueden ser combinados o pueden ser independientes en el caso de las etapas de calificación.

Toda la documentación generada durante la ejecución de los protocolos deberá estar disponible, por lo que es recomendable adjuntarla al reporte para evitar pérdida de información.

4.9 Aspectos generales de Microbiología

El objetivo de este apartado es dar un conocimiento general de la microbiología y su papel en la industria farmacéutica, revisando los diferentes métodos de esterilización desde el punto de vista microbiológico y su relación con el uso de indicadores biológicos.

Todos los organismos vivos se pueden dividir en dos tipos celulares: procariotas y eucariotas. Tienen estructuras en común como la membrana celular, ribosomas y ácido desoxirribonucleico.

Los organismos multicelulares, animales y plantas, están constituidos por células eucariotas. El término eucariota hace referencia a núcleo verdadero. La célula eucariota es típicamente mayor y estructuralmente más compleja que la célula procariota.

Se llama procariota a las células sin núcleo celular definido; es decir, cuyo material genético se encuentra disperso en el citoplasma, reunido en una zona denominada nucleoide. Las bacterias son microorganismos unicelulares procariotas.

Los microorganismos están presentes en la naturaleza y, como tales, están presentes en el aire, suelo, personas, materias primas, excipientes, agua, instrumentos y equipos. Algunos grupos de microorganismos pueden vivir en condiciones extremas de temperatura y crecer en una variedad de concentraciones de pH, en presencia de compuestos inorgánicos simples y compuestos orgánicos complejos.

Los microorganismos se caracterizan por su taxonomía, estructura, funciones, metabolismo y condiciones bajo las cuales pueden ser detectados e identificados.

Con el fin de detectar, diferenciar y cuantificar los microorganismos se utilizan medios de cultivo que proporcionan elementos necesarios para el crecimiento. Los microorganismos poseen diferentes exigencias para su crecimiento y no es posible desarrollar un medio con todos los diversos componentes optimizados. La detección y cuantificación de

microorganismos también depende del pH del medio de cultivo y la temperatura de incubación.

4.9.1 Morfología

La forma de las bacterias al microscopio está determinada por la rigidez de su pared celular. Básicamente, se diferencian según su forma en cocos (esféricas u ovaladas), bacilos (cilíndrica o de bastones; rectos o curvos) y espirilos (espiral).

Las bacterias pueden mantenerse unidas unas con otras después de la división celular, pero conservando siempre la independencia celular. Si el plano de división es único, podemos encontrar diplococos o cocos en cadena. Si los planos de división son muchos, los cocos pueden agruparse en tétradas o en racimos. Los bacilos pueden variar en longitud. Sus extremos pueden ser redondeados o rectos; pueden estar aislados, dispuestos en cadenas, filamentosos o formando letras chinas. Los bacilos curvos pueden tener forma de coma. La ilustración siguiente presenta un esquema de la morfología de éstos.

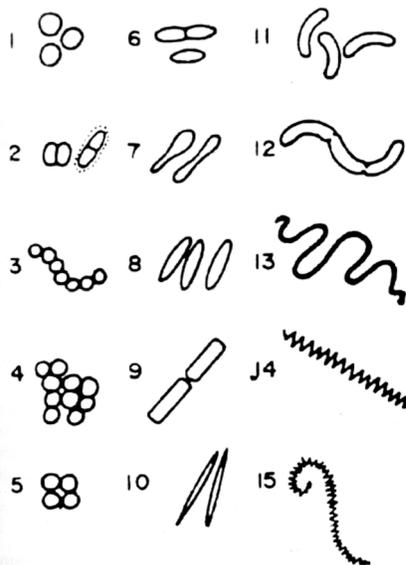


Ilustración 1. Morfología de Microorganismos

1. cocos; 2. diplococo; 3. cocos en cadenas; 4. cocos en racimos; 5. cocos en tétradas; 6. cocobacilos; 7. bacilos; 8. bacilos bordes redondeados; 9. bacilos bordes rectos; 10. bacilos fusiformes; 11, 12. bacilos curvos; 13 al 15. espiroquetas. (M. Pérez, 2006)

La morfología bacteriana se observa al microscopio óptico u electrónico, dado el tamaño pequeño de estos microorganismos.

4.9.2 Tinciones

La morfología bacteriana puede ser estudiada de dos formas: por visualización de los microorganismos sin teñir o con tinciones mediante colorantes que mejoran notablemente la visualización de su morfología y nos permite conocer características tintoriales para orientarlas a un grupo o clasificación bacteriana.

Para teñir, se dispone de un gran número de compuestos orgánicos e inorgánicos que se pueden clasificar según su origen en naturales o artificiales y según su comportamiento químico se clasifican en ácidos, básicos y neutros. Los colorantes básicos por ejemplo, son atraídos por los componentes de carga negativa como los ácidos nucleicos y los polisacáridos. Ejemplo de este tipo son: el azul de metileno, el cristal violeta y la safranina.

Las tinciones que se usan para teñir los preparados de bacterias, se pueden dividir en: simples, diferenciales y especiales. Las tinciones simples involucran un solo colorante. Las diferenciales involucran el uso de reactivos por ejemplo la coloración de Gram y la de Ziehl Nielsen además de lo anterior, y permiten la diferenciación de las bacterias que se comportan distinto según el microorganismo en cuestión. Las tinciones especiales se usan para objetivar distintas estructuras como la cápsula, núcleo, flagelos, esporas, etc. (M. Pérez, 2006).

La tinción de Gram es la más usada en bacteriología. Fue desarrollada por Christian Gram en 1884 y modificado por Hucker en 1921. Es una coloración diferencial, dado que las bacterias pueden clasificarse en dos grupos según su respuesta: Gram positivas, las que retienen el colorante primario cristal violeta o Gram negativas las que contrastan con la Safranina (Emanuel Goldman, 2008). Las primeras se tiñen de color azul violeta y las segundas adquieren un color rosado o rojo. La diferente reacción de las bacterias a la coloración de Gram se relaciona con diferencias fundamentales de la pared celular de estas dos clases de células.

La capa de peptidoglicano es mucho más gruesa en las bacterias Gram positivas, y sostiene moléculas de ácido teicoico, que reacciona con el cristal violeta y el yodo formando un complejo que es retenido por la pared celular. El siguiente paso es una decoloración con una mezcla de alcohol que remueve el cristal violeta de las bacterias Gram negativas pero no de las Gram positivas. Finalmente se utiliza un colorante de contraste, usualmente safranina, que es absorbido por las Gram negativas pero no por las Gram positivas. Estas últimas mantienen el color azul-violeta.

4.9.3 Estructura bacteriana

Las diferentes estructuras bacterianas se dividen en permanentes o variables. Dentro de las estructuras permanentes destacan: la pared celular, la membrana celular, los ribosomas y el material genético. Las estructuras variables son: flagelos, fimbrias o pilis, cápsula y esporas (M. Pérez, 2006).

Además se pueden clasificar las estructuras bacterianas en internas o citoplásmicas y externas o de la envoltura celular. Dentro de las internas destacan el material genético, los ribosomas y los cuerpos de inclusión. La envoltura celular engloba la membrana plasmática, la pared celular que la recubre, la cápsula y los apéndices como fimbrias o pilis y flagelos.

4.9.4 Estructura de la pared celular de las bacterias Gram positivas

La gruesa pared celular de las bacterias Gram positivas está constituida principalmente por peptidoglucano. Esta capa es determinante para que estas bacterias retengan el cristal violeta de la coloración de Gram.

Estas células contienen también una gran cantidad de ácido teicoico el cual tiene un rol en la virulencia de estos microorganismos, porque actúa como antígeno de superficie que se une a receptores específicos en las células del huésped.

La superficie externa del peptidoglucano de las bacterias Gram positivas está cubierta de proteínas. Los diferentes grupos de bacterias Gram positivas y las diferentes especies difieren en la composición de sus proteínas y de ácidos teicoicos.

4.9.5 Estructura de la pared celular de las bacterias Gram negativas

La pared de las bacterias Gram negativas posee tres zonas: la membrana plasmática, el espacio periplásmico (que incluye una fina capa de peptidoglucano) y la membrana externa. Esta última, exclusiva de las bacterias Gram negativas, es una bicapa lipídica que difiere de otras membranas por su capa externa, que está constituida por una molécula anfipática: el lipopolisacárido (LPS) o endotoxina.

Además del LPS, la membrana externa contiene fosfolípidos y proteínas que la unen al peptidoglucano.

El LPS está constituido por tres partes: el lípido A, el polisacárido central o del core y la cadena lateral O (Prescott, 2004).

4.9.6 Principales efectos del lipopolisacárido o endotoxina

El LPS es termoestable, resistente incluso a la esterilización con autoclave. Su actividad endotóxica se asocia al componente lipídico A, liberado cuando la célula se lisa como consecuencia de la fagocitosis o de la acción de antibióticos.

Pequeñas cantidades de endotoxina provocan reacciones inmunológicas de alarma: fiebre, activación del complemento por la vía alternativa, activación de los macrófagos y estimulación de linfocitos B. En grandes dosis produce shock e incluso la muerte.

4.9.7 Esporas

Algunas bacterias Gram positivas pueden formar en el interior de sus células una estructura especial inactiva de resistencia conocida como spora o endospora, se produce al cesar el crecimiento como consecuencia de la limitación de un nutriente esencial como la fuente de carbono o nitrógeno. Entre las bacterias formadoras de esporas, los géneros mejor conocidos son *Bacillus* y *Clostridium*.

Estas estructuras son altamente resistentes a condiciones adversas como la falta de nutrientes esenciales, desecación, altas temperaturas, radiación ultravioleta, químicos y pueden permanecer largos periodos de tiempo en estado de latencia. Debido a su resistencia y al hecho de que varias especies de bacterias formadoras de esporas son agentes patógenos peligrosos, las esporas han adquirido gran importancia para la microbiología en el desarrollo de procedimientos de esterilización para medicamentos, alimentos, medios de cultivo, entre otras aplicaciones (Prescott, 2004).

La estructura de la espora es muy diferente de la célula vegetativa, es mucho más compleja y presenta muchas capas superficiales. La capa más externa es el exosporio, una fina y delicada cubierta de naturaleza proteica. Por debajo de ésta se encuentra la cubierta de la espora que se compone de proteínas específicas. Debajo de la cubierta se localiza el córtex constituida por peptidoglicano con uniones laxas. Posteriormente se presenta el núcleo o protoplasto de la espora que contiene la pared celular similar a la de la célula vegetativa, la cual contiene las estructuras celulares (citoplasma, ribosomas, nucleóide, etc.). Por ende la espora se diferencia de la célula vegetativa por la estructura que rodea la pared.

Un compuesto químico característico de la espora es el ácido dipicolínico y una concentración alta de iones calcio, localizados en el núcleo de la espora; éstos forman complejos de dipicolinato de calcio que ayuda a estabilizar el ácido desoxirribonucleico.

El núcleo de la espora contiene sólo del 10 al 30 % del agua de la célula vegetativa, la deshidratación aumenta la resistencia y estabiliza las proteínas celulares.

4.9.8 Control de crecimiento microbiano en la industria de insumos

En la industria farmacéutica, los microorganismos provienen de diversas fuentes como materias primas, excipientes, materiales auxiliares agua utilizada en la formulación y limpieza del equipo y en el medio ambiente, por lo cual se debe controlar la población microbiana durante el proceso aséptico (Schlegel, 1997).

Hay una serie de procesos de esterilización que se pueden utilizar para la inhibición del crecimiento microbiano, los cuales son:

- Vapor o calor húmedo
- Calor seco
- Gases
- Radiaciones ionizantes
- Filtración

En las líneas siguientes se describe cada una de estas técnicas de esterilización.

4.9.9 Esterilización por vapor

Es un proceso de esterilización físico cuyo agente esterilizante es el vapor de agua, el principio básico de operación consiste en que el aire en el interior de la cámara es desplazado por el vapor saturado mediante válvulas de escape o trampas (Osakideta Servicio Vasco de Salud, 2004).

El calor húmedo generado mediante la inyección de vapor destruye los microorganismos al producir la desnaturalización y coagulación de las proteínas.

La esterilización por calor húmedo se basa en el uso de vapor por encima de los 100 °C, generalmente en un intervalo de temperatura de 121 a 134 °C. El tiempo mínimo de exposición para la esterilización de equipamiento médico es de 15 minutos a 121 °C, 10 minutos a 126 °C y 3 minutos a 134 °C. El vapor puede ser calentado a temperaturas superiores a los 100 °C únicamente mediante el incremento de la presión por encima de la presión atmosférica a nivel del mar.

La muerte microbiana puede ser vinculada a la desnaturalización de proteínas críticas y ácidos nucleicos dentro de la célula, aunque la prueba clara de la teoría no ha sido alcanzada. Esta desnaturalización es un resultado de la ruptura de los enlaces de hidrógeno intramoleculares que son parcialmente responsables de la orientación espacial de la molécula.

Las proteínas se ordenan específicamente en cadenas de aminoácidos unidos por enlaces polipeptídicos. Los ácidos nucleicos son policondensados de azúcares de ribosa unidos por enlaces de fosfato. Cada ribosa es dependiente de una orientación espacial específica para realizar su función. Como los enlaces de hidrógeno se rompen, la estructura y la función se pierden. Sin embargo, la desnaturalización puede ser reversible o irreversible. La estructura funcional de la molécula se pierde en etapas. Si se detuvo antes de que un número crítico de enlaces de hidrógeno se rompieran, es posible para que la molécula vuelva a su estado original. Por ejemplo, el ADN cambia gradualmente de una hélice a una espiral.

Datos significativos de investigación apoyan la teoría de que la muerte microbiana puede ser descrita como una reacción química de primer orden. Esto lleva a la conclusión de que la muerte es esencialmente una reacción de una sola molécula. Probablemente estamos tratando con la desnaturalización de una molécula crítica dentro de cada célula. Las esporas bacterianas son las formas más resistentes a la muerte térmica. Su resistencia térmica se ha relacionado con la relativa ausencia de agua en su núcleo central denso. (Perkins, 1969).

Lo anterior pone de relieve la importancia de la humedad en la muerte térmica. Las esporas bacterianas son más rápidamente destruidas en presencia de vapor de agua saturado que por calor seco. Es posible que el agua cause la hidratación de un polímero estabilizando el dipicolinato de calcio dentro de la spora. Además el agua está vinculada directamente a la desnaturalización de las proteínas y los ácidos nucleicos mediante la hidratación.

4.9.10 Esterilización por calor seco

En general, el calor seco se utiliza para la esterilización de materiales resistentes al calor a través de la incineración de los microorganismos. Desde el punto de vista de la esterilización, los contaminantes generalmente son transmitidos por microorganismos Gram negativos que no son resistentes a este proceso. Sin embargo, la formación de endotoxinas por microorganismos Gram negativos puede presentar problemas en el producto terminado estéril. Estas endotoxinas son consideradas agentes pirógenos, y un medicamento parenteral debe ser apirógeno.

El proceso por calor seco es continuo alrededor de 170 °C para la esterilización ó 250 °C para la despirogenización. El calor seco se utiliza para la esterilización o despirogenización de objetos de vidrio que se utilizarán para la fabricación o envasado de los productos procesados asépticamente. En este proceso no se incluyen contenedores de plástico, ya que las temperaturas utilizadas son demasiado altas. La despirogenización se define entonces como la eliminación de todas las sustancias pirogénicas incluyendo las endotoxinas bacterianas (Perdomo Morales & Montejo Alejo, 2003)

A menudo, las condiciones de esterilización por calor seco se utilizan para la despirogenización de objetos de vidrio y otros componentes capaces de resistir las temperaturas. El proceso de despirogenización para un proceso de calor seco incluye la esterilización por las altas temperaturas de operación.

4.9.11 Esterilización con gases

La utilización de sustancias esterilizantes es una alternativa que tiene algunas ventajas. Existen varias sustancias que pueden ser usadas como el peróxido de hidrógeno y el óxido de etileno.

El gas más utilizado y conocido es el óxido de etileno en su forma pura o en combinación con gases inertes. Este gas es muy volátil y altamente inflamable. Dado que es un agente alquilante que destruye microorganismos, incluidas las esporas y células vegetativas, la esterilización se realiza en una cámara presurizada (Roa, 2009).

Se utiliza para la esterilización de dispositivos médicos, telas de uniformes, así como pipetas desechables y cajas petri. La desventaja de este proceso son los residuos tóxicos del óxido de etileno que deben ser removidas del material esterilizado a través de la degasificación posterior a la esterilización. Esto implica la necesidad de protección del personal contra los efectos nocivos del gas.

Los parámetros de control que intervienen en la esterilización de gas incluyen la humedad, la concentración de gas y la temperatura. Esto complica el seguimiento y control del proceso, pero la destrucción de las bacterias es tan predecible y reproducible como la obtenida por la esterilización con vapor.

4.9.12 Esterilización por radiación ionizante

La destrucción de bacterias por el uso de radiaciones ionizantes tiene fundamento en que éstas afectan a los ácidos nucleicos de los microorganismos de una manera irreversible. La formación de radicales libres y peróxidos altamente reactivos contribuyen a la letalidad del proceso de esterilización. Hay dos tipos de proceso de radiación ionizante que se pueden utilizar: la irradiación gamma y la radiación de haz de electrones. La esterilización por radiación se utiliza para los productos sanitarios cuando son sensibles al calor o cuando los residuos de óxido de etileno tienen una interacción química no deseada.

La medición precisa de la dosis de radiación, que es el factor de control del proceso junto con el tiempo de exposición a la radiación. El seguimiento y control del proceso es simple, pero las precauciones para los operadores son altas (Roa, 2009).

4.9.13 Esterilización por Filtración

Este proceso difiere de los otros métodos, ya que implica la eliminación física de los microorganismos a través de filtros que están constituidos por una matriz porosa que no permite el paso de los microorganismos. No es más que un simple efecto de tamizado; también incluye la absorción de los microorganismos en el sustrato del filtro (Roa, 2009).

Este modo de la esterilización se utiliza principalmente para los productos líquidos que se pueden filtrar o que son termolábiles y no pueden ser esterilizados por otro medio. Este proceso comúnmente se combina con un proceso de llenado aséptico.

La efectividad de la esterilización por filtración está en función de la magnitud de la carga biológica microbiana, ya que la obstrucción de los filtros puede afectar los resultados obtenidos en el proceso.

La presión, caudal y las características de los filtros son factores del proceso que deben ser controlados para lograr la esterilización del producto en una forma reproducible. El tamaño nominal del poro para la esterilización del filtro es de 0,2 micras; sin embargo depende de las necesidades de la producción.

4.9.14 Indicadores biológicos

Un indicador biológico se define como una preparación caracterizada de microorganismos específicos que proporciona una resistencia definida y estable a un proceso de esterilización específico (Secretaría de Salud, 2011).

El principio básico de los indicadores biológicos consiste en obtener poblaciones de microorganismos estandarizadas. Los microorganismos utilizados como indicadores biológicos son bacterias formadoras de esporas, ya que tienen una alta resistencia a los procesos de esterilización. Los indicadores biológicos se emplean en procesos que dan como resultado un producto estéril, como son materiales, componentes de envase o el producto mismo (CYTNIS S.A. de C.V., 2011). Se utilizan para controlar ciclos de esterilización establecidos evaluando la capacidad de proceso empleado para descontaminar.

Existen diferentes tipos de indicadores biológicos. Cada tipo de indicador incorpora una especie conocida de un microorganismo con resistencia conocida a una forma específica de esterilización. Algunos indicadores poseen dos especies diferentes de microorganismos en concentración diferentes. Estos indicadores son comercialmente disponibles principalmente en forma de:

1. Tiras de esporas. Franja de papel filtro impregnada con una suspensión de esporas bacterianas y contenidos dentro de un sobre de papel cristal. Pueden ser utilizados en otros sustratos, por ejemplo aluminio, acero inoxidable, vidrio, plástico.
2. Discos de esporas. Piezas circulares de papel filtro impregnado con una suspensión de esporas.
3. Suspensiones de esporas. Una suspensión de esporas con la que se puede realizar la inoculación en la superficie de un material o producto.
4. Unidades auto contenidas. Incluye un envase, el sustrato inoculado con esporas y el medio de cultivo en la que van a ser incubados, permitiendo una mayor sencillez de uso.

El indicador biológico se debe envasar de forma que se conserve la integridad del sustrato inoculado. El sustrato y el envase no deben permitir la contaminación ni afectar las características del inóculo, deben ser resistentes al proceso de esterilización, manipulación y almacenamiento.

4.9.15 Indicador biológico auto contenido

Esta presentación se considera un sistema que ofrece resistencia al proceso de esterilización. Una característica importante del envase del sistema es que su diseño permite la exposición del inóculo a las condiciones de esterilización.

Después del tratamiento de esterilización el sistema se manipula para sumergir el sustrato con el inoculo en el medio de cultivo y lograr el contacto entre ambos.

Los indicadores biológicos auto contenidos se distingue por facilitar la incubación inmediatamente después de haberse expuesto al proceso de esterilización, el envase soporta el transporte y manipulación in situ disminuyendo al mínimo la pérdida del inoculo.

El sistema no retiene ni libera sustancias que puedan inhibir el inóculo durante o después del proceso de esterilización.

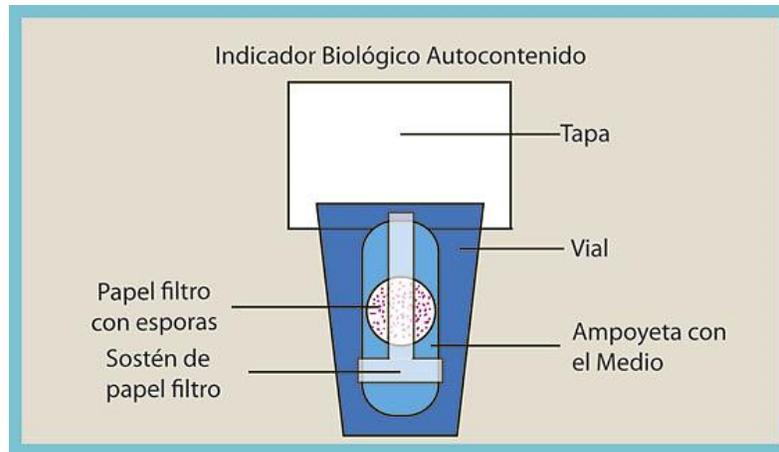


Ilustración 2. Indicador biológico autocontenido
(CYTNIS S.A. de C.V., 2011)

4.9.16 Indicadores físico-químicos

Son dispositivos que responden de una manera medida a uno o más parámetros críticos de esterilización, sin embargo no son representativos de la duración a la exposición.

Se utilizan para controlar un parámetro físico que indica que la carga ha sido expuesta a ese factor, por ejemplo la temperatura. Funcionan como prueba alterna de control de laboratorio.

No interactúan física o químicamente con ningún envase o producto sometido al proceso de esterilización.

4.10 Aspectos termodinámicos de los procesos de esterilización

4.10.1 Valores F, D, y Z.

El proceso de esterilización involucra diversas variables inter-relacionadas, cada una de las cuales opera bajo un conjunto único de circunstancias, es por esto que se han desarrollado relaciones matemáticas para entender los mecanismos involucrados en el proceso de esterilización.

Existen tres factores que se distinguen en el proceso de esterilización: temperatura, tiempo y resistencia microbiana. Entendiendo como tales lo siguiente:

Temperatura. La temperatura en grados Celsius ($^{\circ}$ C) de la cámara de esterilización o temperatura del material de la carga. Para todos los microorganismos existe una temperatura máxima de crecimiento por encima de la cual mueren, pues a temperaturas muy altas pierden su estructura y función.

Tiempo. El tiempo es el elemento clave en el proceso de esterilización ya que es fundamental disponer de una medida cuantificable de las condiciones del proceso.

Resistencia. Los microorganismos tienen una capacidad inherente de sobrevivir a ciertas condiciones adversas. Algunos son relativamente débiles, pero otros, como las esporas, tienen una alta resistencia; es por eso que las esporas son seleccionadas como reto microbiológico aplicable a los procesos de esterilización (Ver sección 4.9.7.)

4.10.2 Definiciones

A fin de consolidar las variables esenciales que permitan la evaluación de la capacidad de destrucción de microorganismos en un determinado proceso de esterilización, para proporcionar un entendimiento más claro es indispensable conocer los siguientes términos (European Pharmacopoeia 6.0, 2007):

Valor F. Tiempo equivalente a una temperatura específica entregada a un contenedor o unidad de producto.

Valor D. Tiempo en minutos requerido para destruir el 90 % de una población o muestra a una temperatura específica. En otras palabras es el tiempo para que disminuya la población en un logaritmo (10 veces).

Valor Z. Número de grados de cambio de temperatura necesarios para cambiar el valor D por un factor de 10.

La esterilización es una función de probabilidad que depende de:

- El número de microorganismos del reto
- La resistencia al calor de estos microorganismos
- La cantidad de calor de exposición

Los factores F, D y Z comparan la eficacia de los diferentes ciclos de esterilización usando un modelo matemático que permite la adecuación de los mismos.

4.10.3 Tasa de letalidad

La tasa de letalidad o tasa de letalidad instantánea (L), es definida como el tiempo equivalente a una temperatura dada en relación a una temperatura base de referencia. Ejemplo: la tasa de letalidad para 117 $^{\circ}$ C relativo a 121 $^{\circ}$ C (suponiendo que el valor Z es 10) es 0,398. Esto significa que cada minuto (60 segundos) de tiempo de proceso a una temperatura de 117 $^{\circ}$ C, "equivale" de sólo 0,4 minutos a 121,1 $^{\circ}$ C. (Agalloco & Carleton, 2008)

Esto suena razonable, pero ¿cómo se determina esta tasa de letalidad para todas las temperaturas que puedan darse en el curso del desarrollo y la validación del proceso? Esto puede calcularse fácilmente mediante la siguiente fórmula:

$$L = \log^{-1} \frac{T_0 - T_b}{z} = 10^{(T_0 - T_b)/z}$$

Ecuación 1. Tasa de letalidad

Dónde:

To: Temperatura del material dentro de la cámara

Tb: Temperatura base

Z: 10 °C (valor teórico)

Como ejemplo podemos suponer un proceso muestra minuto a minuto una temperatura de 118 °C en el material sometido a un ciclo en el que la autoclave se mantiene en 121 °C. Sustituyendo en la Ecuación 1:

$$L = 10^{(118 - 121,1)/10}$$

$$L = 10^{-3.1/10}$$

$$L = 10^{-0.31}$$

$$L = 0.489$$

Por lo tanto, por cada minuto del proceso en el que el material permanece a 118 °C, equivale a 0.489 minutos de tiempo a 121 °C el cual se adiciona al tiempo total del proceso.

¿Cuál es la temperatura más baja a la cual puede ser utilizada la tasa de letalidad?

Las temperaturas por debajo 100 °C no suele agregar un valor significativo para la evaluación de la esterilización. Por ejemplo, el cálculo de la tasa de letalidad para 100 °C:

$$L = 10^{(100 - 121,1)/10}$$

$$L = 10^{-2.1/10}$$

$$L = 10^{-2.11}$$

$$L = 0.008$$

4.10.4 Valor F

El valor de F (homologa a la tasa de letalidad) se utiliza como una medida de la eficacia de la esterilización; este término se lee como F₀ (F “sub zero”)

El valor de F se cita como el tiempo equivalente a una temperatura *T* entregado a un contenedor o unidad de producto calculada en función del valor Z.

Si por ejemplo, se declara a una temperatura base de 121 °C F₀ con valor de 9, quiere decir que el proceso es equivalente exactamente 9 minutos a 121,1 °C, independientemente de la temperatura de proceso y el tiempo utilizado en el ciclo.

Si a una temperatura base de 115 °C F_0 tiene valor de 9, se está describiendo que el proceso es equivalente exactamente nueve minutos a 115 °C, independientemente de la temperatura de proceso y el tiempo utilizado en el ciclo.

Para todos los métodos de esterilización térmica, el valor de F se utiliza junto con la concentración de microorganismos incluidos en el reto biológico, el valor de Z, y el valor D para determinar la eficacia microbiológica del ciclo de esterilización. (Agalloco & Carleton, 2008)

4.10.4.1 Cálculo de F_0

En términos matemáticos, F_0 se expresa de la siguiente forma (Bringert, 2000):

$$F_0 = \Delta t \times 10^{(T-121.1)/Z}$$

Ecuación 2. Cálculo de F_0

En donde Δt es un intervalo de tiempo entre las mediciones de T; T es la temperatura de esterilización de los materiales en el tiempo t, Z es el número de grados de cambio de temperatura necesarios para incrementar el valor D por un factor de 10.

Ejemplos:

De acuerdo a la Ecuación 2, para un proceso que duró 12 minutos exactamente a 121 °C:

$$F_0 = 12 \times 10^{(121,1-121.1)/10}$$

$$F_0 = 12 \times 10^0$$

$$F_0 = 12 \times 1$$

$$F_0 = 12 \text{ minutos}$$

Para un proceso que duró 15 minutos exactamente a 119,1 °C:

$$F_0 = 15 \times 10^{(119,1-121.1)/10}$$

$$F_0 = 15 \times 10^{-2/10}$$

$$F_0 = 15 \times 10^{-0.2}$$

$$F_0 = 15 \times 0.63$$

$$F_0 = 9.46 \text{ minutos}$$

Para un proceso que duró 12 minutos exactamente a 122,5 °C:

$$F_0 = 12 \times 10^{(122.5-121.1)/10}$$

$$F_0 = \Delta t \times 10^{(1.4)/10}$$

$$F_0 = 12 \times 10^{1.4/10}$$

$$F_0 = 12 \times 10^{0.14}$$

$$F_0 = 12 \times 1.38$$

$$F_0 = 16.56 \text{ minutos}$$

Podemos observar que está surgiendo un patrón: cuanto más baja la temperatura de proceso, menor será el valor F_0 del proceso global. El mismo cálculo se aplica si la temperatura del proceso está por encima de la temperatura de referencia.

4.10.4.2 El uso de F_0

¿Por qué F_0 es utilizado para describir el proceso de esterilización? La respuesta radica en el hecho de que para los procesos de esterilización, hay una necesidad de caracterizar con mayor precisión la capacidad del proceso para comparar los efectos resultantes de un ciclo con los ciclos de otro proceso con el mismo resultado que se busca, o para comparar los resultados con un resultado predeterminado.

Las autoclaves modernas están equipados con microprocesadores que no sólo sirven para controlar el tiempo, temperatura, vacío y presión; además integran el cálculo de la tasa de letalidad F_0 en tiempo real.

En cualquier caso, un proceso debe ser diseñado de forma que permita la imprecisión de los equipos de esterilización de tal manera que ofrezca, con cierto grado de seguridad, una medida uniforme de la letalidad de calor para cada unidad dentro de la carga.

La idoneidad del proceso de esterilización debe determinarse para que el material pueda ser expuesto de manera segura. Esto se hace generalmente a través de estudios en donde unidades representativas de los materiales se exponen a una amplia gama de niveles de F_0 , posteriormente se prueban atributos de calidad que normalmente son afectadas por el calor excesivo, el desarrollo de la degradación, generación de partículas, etc.

Una vez que este nivel ha sido determinado, se decide cuál debe ser empleado. El proceso debe ser diseñado de tal manera que permanezca dentro de los límites establecidos, sin embargo debe permitir las variaciones u oscilaciones que forman parte del mismo proceso o por características del equipo utilizado.

Algunas industrias farmacéuticas han optado por emplear una prueba en la cual el tiempo de ciclo de esterilización es la mitad de la duración total, para agregar un nivel de seguridad a la validación con la premisa de que si el ciclo inicial se interrumpe por cualquier motivo (fallo de alimentación, terminación inadvertida, etc.) aseguremos un nivel aceptable de la tasa de letalidad o en un segundo ciclo el producto no esté expuesto a una letalidad superior a la que ha sido validado (Lewis, 2002).

4.10.4.3 Determinación del valor mínimo requerido de F_0

Ya sabemos cómo determinar el tiempo al cual la temperatura de nuestro proceso es equivalente a 121 °C, ahora se necesita saber exactamente la tasa de letalidad mínima para un ciclo de esterilización que puede ser determinado por la evaluación del nivel que se desea para garantizar la esterilidad, junto con la carga y la resistencia de los microorganismos del reto microbiológico, mediante la fórmula (European Pharmacopoeia 6.0, 2007)

:

$$F_0 = D_{121,1}(\log_{10} A - \log_{10} B)$$

Ecuación 3. Cálculo del valor requerido de F_0

Donde $D_{121,1}$ es el valor D a 121,1 °C de la carga del reto microbiológico, A es la población o concentración de la carga del reto microbiológico por contenedor, B concentración máxima aceptable o nivel de garantía de la esterilidad (Secretaría de Salud, 2011).

Ejemplo.

El producto de la esterilización tiene una población de 100 esporas por contenedor, el valor D es de 3,3 minutos y el SAL deseado es 10^{-6} , es decir, la garantía de que no más de 1 unidad en 1 millón de unidades estarán no estériles:

$$F_0 = D_{121,1}(\log_{10} A - \log_{10} B)$$

$$F_0 = 3.3(2 - (-6))$$

$$F_0 = 26.4 \text{ minutos}$$

Por lo tanto, en este proceso de esterilización para lograr la destrucción de 100 esporas, todas las unidades del material sometido al proceso de esterilización deben recibir al menos 26,4 F_0 , es decir, el equivalente de 26,4 minutos a 121,1 °C.

4.10.5 Cálculo de letalidad del proceso

El valor de la tasa de letalidad (L) es usado para determinar la letalidad entregada en el proceso utilizando la siguiente fórmula (Bringert, 2000) basada en la integración de la Ecuación 1 en el supuesto de que el efecto letal obtenido a diferentes temperaturas, es aditiva tenemos:

$$F_0 = \sum_{T=1}^X Ldt$$

Ecuación 4. Cálculo de letalidad de proceso

Donde T = 1 es el primer incremento del valor de F_0 , y X es el último tiempo del incremento del valor de F_0 .

Para fines del presente trabajo, el cálculo de letalidad de proceso como tasa de letalidad acumulada es la sumatoria de cada valor L o tasa de letalidad instantánea del total del ciclo, permitiendo así visualizar el valor acumulado.

La integración de las tasas de letalidad se puede calcular utilizando la regla del trapecio midiendo el área bajo la curva, dividiéndola en cuerdas paralelas equidistantes. Siendo las longitudes y distancia de las cuerdas $y_1, y_2, y_3, \dots, y_n$ y d es el tiempo entre las sucesivas mediciones de la temperatura:

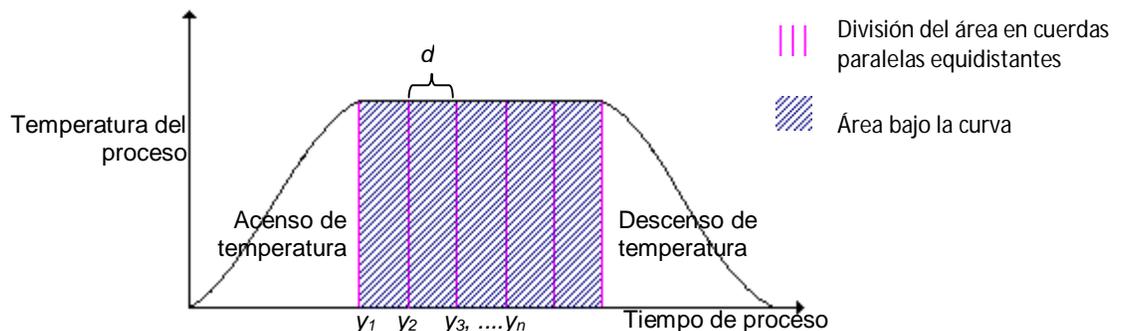


Ilustración 3. Área bajo la curva de un proceso de esterilización.

Simplemente desde una perspectiva matemática el valor de la tasa de letalidad acumulada es una tabulación. En el ejemplo de la Tabla 1, la esterilización se inició con una cámara fría y se programa para ejecutar un ciclo de 10 minutos a 121,1 ° C.

La tasa de letalidad acumulada sumará cada valor F_0 permitiendo así visualizar el total acumulado de 11.339 minutos.

Tiempo (min)	Temperatura (°C)	Tasa de letalidad	Tasa de letalidad acumulada
1	25	0.000	0.000
2	40	0.000	0.000
3	55	0.000	0.000
4	70	0.000	0.000
5	85	0.000	0.000
6	100	0.008	0.008
7	110	0.078	0.086
8	115.5	0.275	0.361
9	119	0.617	0.978
10	121.1	1.000	1.978
11	121.1	1.000	2.978
12	121.1	1.000	3.978
13	121.1	1.000	4.978
14	121.1	1.000	5.978
15	121.1	1.000	6.978
16	121.1	1.000	7.978
17	121.1	1.000	8.978
18	121.1	1.000	9.978
19	121.1	1.000	10.978
20	116	0.309	11.287
21	108	0.049	11.336
22	96	0.003	11.339
23	80	0.000	11.339
24	65	0.000	11.339
25	42	0.000	11.339
26	30	0.000	11.339
27	25	0.000	11.339

F_0

Tabla 1. Ejemplo de cálculo de la tasa de letalidad acumulada

4.10.6 Valor D

El valor D es un término usado para describir la resistencia relativa de un microorganismo en particular a un proceso de esterilización. D_T (ó $D(T)$) Este elemento de tiempo, es un parámetro crítico utilizado en la validación de un proceso de esterilización.

Hay varias formas de visualizar este valor gráficamente, el método consiste en utilizar papel semilogarítmico en el que el eje y está organizado en formato logarítmico y el eje x se organiza en forma aritmética. Esto permite visualizar un cambio de proporción logarítmica en una tasa constante de tiempo.

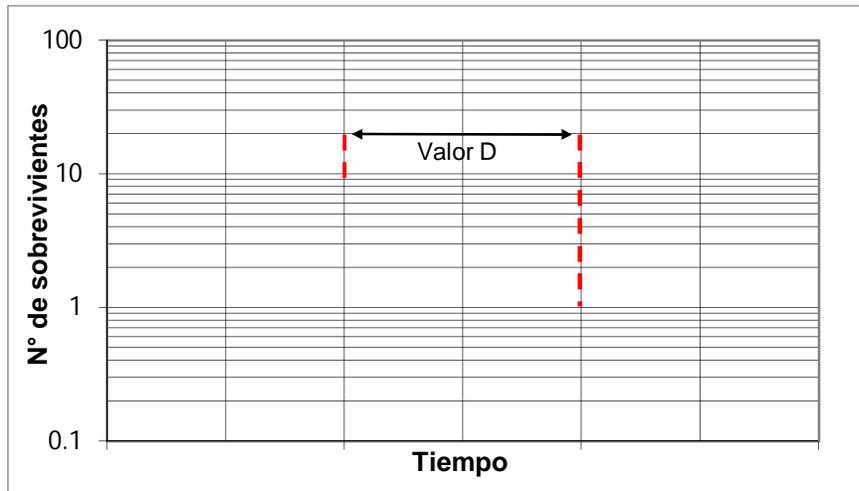


Ilustración 4. Valor D en papel semilogarítmico

El valor D se determina a partir de una línea recta en papel semilogarítmico como el negativo recíproco, de la pendiente de la línea de ajuste a la gráfica del logaritmo del número de sobrevivientes en función del tiempo. Un ciclo en la escala logarítmica de 10 representa un cambio en el número de sobrevivientes, por lo tanto, el valor D es el momento en que la línea recta recorre 1 ciclo logarítmico como se observa en la Ilustración 4.

4.10.7 Cinética de inactivación microbiana

Cuando las poblaciones homogéneas de microorganismos están expuestas a un proceso letal, pierden su viabilidad. La tasa de esta inactivación es directamente proporcional al número de microorganismos presentes y por lo tanto una parte constante de la población sobreviviente se inactiva por cada incremento de la exposición al agente letal. Matemáticamente, el proceso de inactivación se puede describir de la misma manera como una reacción de primer orden químico:

$$N_t = N_0 e^{-kt}$$

Ecuación 5. Cinética de inactivación microbiana

Donde N es el número de microorganismos sobrevivientes después del tiempo t, N_0 , el número de microorganismos en el momento cero, k, la tasa de inactivación microbiana constante, t, el tiempo de exposición.

Si el logaritmo de la fracción de los sobrevivientes (N/N_0) en función del tiempo de exposición, la curva de supervivencia resultante será lineal, con una pendiente negativa (Ilustración 5). La pendiente de la recta es $k/2.303$ de la tasa de inactivación microbiana.

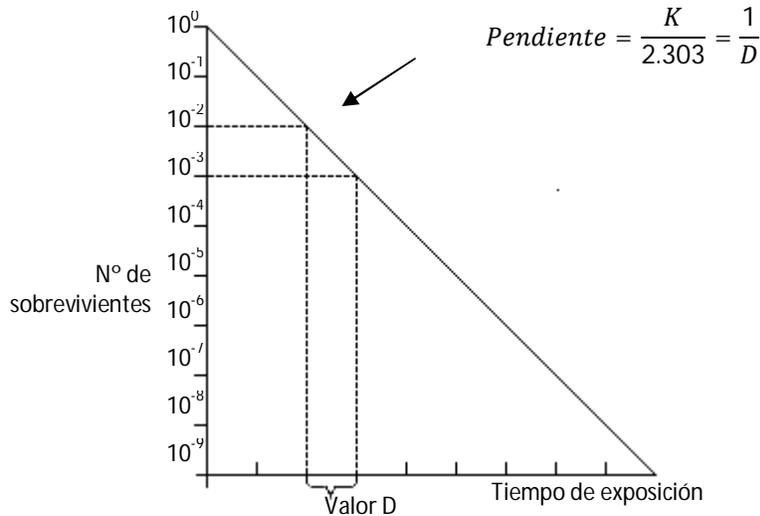


Ilustración 5. Curva de supervivencia y Valor D

4.10.8 Determinación del valor D

El valor D varía con la selección del microorganismo, se utiliza como una medida de la tasa de inactivación microbiana k , se puede estimar a partir las siguientes ecuaciones.

$$D = \frac{t}{\log N_0 - \log N_t}$$

ó

$$D = \frac{2.303}{k}$$

Ecuación 6. Cálculo del valor D a partir de la tasa de inactivación microbiana

Existen varios modelos matemáticos utilizados para la determinación experimental del valor D entre los más destacados podemos mencionar: Método de curva de supervivencia, el método Spearman-Kärber (a veces denominado como Holcomb- Spearman-Kärber) donde el análisis se basa en el tiempo medio de supervivencia, y el Stumbo Murphy-Cochran, método que utiliza el enfoque del número más probable.

El primer paso en el proceso es garantizar un suministro adecuado de sustrato a las unidades contenedoras de esporas. Se dividen en grupos 5 a 10 unidades, se exponen al medio ambiente de estrés dentro del autoclave en un patrón de tiempos de exposición cada vez mayor.

Tras estas exposiciones, las unidades contenedoras de esporas se pueden incubar de dos maneras:

1. Las unidades individuales pueden ser suspendidos en un medio diluido a un nivel adecuado, y se incuban. El número estimado de los supervivientes se puede determinar multiplicando el número de unidades formadoras de colonias en las placas por el factor de dilución y el valor D se determina por el método de la curva de supervivencia.

2. Alternativamente, las unidades contenedoras se incuban de forma individual en un medio de cultivo adecuado y evaluado, ya sea como un crecimiento positivo (con crecimiento) o negativos (sin crecimiento) y el valor D determinado por el método de fracción negativa.

4.10.8.1 Método de curva de sobrevivencia

Si el número de unidades contenedoras es pequeño, la enumeración de los sobrevivientes en una curva de sobrevivencia puede ser la mejor manera de analizar los datos.

Una curva de sobrevivencia es una representación gráfica del logaritmo del número de microorganismos sobrevivientes en el eje “y” con respecto al tiempo de calentamiento o exposición en el eje “x” (35). Durante una prueba de la curva de sobrevivencia, el número de microorganismos viables se reduce por el agente de esterilización de una población inicial grande, por ejemplo, 10^6 , a una población pequeña, por ejemplo, 10^1 , el cual se determina por recuento en placas.

Un cambio en este número de microorganismos no puede ser presentado de manera significativa en una escala aritmética, de modo que un método de presentación de datos consiste en graficar el logaritmo del número de microorganismos sobrevivientes frente al tiempo de exposición en papel semilogarítmico (Ilustración 4).

Para desarrollar la confianza estadística en los resultados, los estudios deben repetirse a lo largo de varios días. La regresión lineal puede usarse entonces para determinar la pendiente de la línea utilizando la fórmula siguiente:

$$Pendiente(k) = \frac{\sum U_i(\log N_i) - [(\sum U_i)(\sum \log N_i)/n]}{\sum U_i^2 - (\sum U_i)^2/n}$$

Ecuación 7. Cálculo de valor D por curva de sobrevivencia

Dónde: U es el tiempo de exposición, N el número de sobrevivientes; n , el número de mediciones o registros de U .

Ejemplo:

Nº	U	Nº de sobrevivientes (N)	log N	(log N ²)	U ²	(U)(log N)
1	10	2.20E+07	7.342	53.911	100	73.42
2	10	2.30E+07	7.362	54.195	100	73.62
3	10	2.40E+07	7.380	54.468	100	73.80
4	15	1.30E+06	6.114	37.380	225	91.71
5	15	1.10E+06	6.041	36.498	225	90.62
6	15	1.40E+06	6.146	37.775	225	92.19
7	20	2.20E+05	5.342	28.541	400	106.85
8	20	2.10E+05	5.322	28.326	400	106.44
9	20	2.70E+05	5.431	29.500	400	108.63
Total	135		56.482		2175	817.26

Tabla 2. Datos para calcular el valor D por curva de sobrevivencia

$$\begin{aligned}
 \text{Pendiente}(k) &= \frac{\sum U_i(\log N_i) - [(\sum U_i)(\sum \log N_i)/n]}{\sum U_i^2 - (\sum U_i)^2/n} \\
 &= \frac{817.26 - [135(56.48)/9]}{2175 - (135)^2/9} \\
 &= \frac{817.26 - 847.2}{2175 - 2025} \\
 &= \frac{-29.94}{150} \\
 &= -0.1996
 \end{aligned}$$

El valor D, entonces, es el inverso negativo de la pendiente:

$$D = \frac{-1}{k}$$

$$D = \frac{-1}{-0.1996}$$

$$D = 5.01 \text{ minutos}$$

4.10.8.2 Método de fracción negativa

Es un procedimiento mucho más corto y sencillo, pero menos exacto. Este método se conoce con el nombre de la fracción negativa de Brown o "Presencia – Ausencia" del crecimiento de microorganismos y se basa en la exposición de un número determinado de unidades en un medio de cultivo líquido con la misma concentración de inóculo, a una temperatura determinada por varios periodos de tiempo.

En este método en especial, se identifica los tiempos a los cuales las unidades expuestas dejan de presentar crecimiento.

4.10.8.3 Método Spearman-Kärber

El procedimiento de análisis de Spearman-Kärber proporciona una estimación del tiempo promedio en que una unidad deja de presentar crecimiento (U_{sk}). Este método también proporciona una estimación de la varianza de U_{sk} , y el intervalo de confianza alrededor del número (Agalloco & Carleton, 2008):

Este método requiere:

1. Los tiempos de exposición de la muestra
2. Número de repeticiones en cada tiempo
3. Un conjunto de resultados con todas las unidades positivas
4. Un conjunto de resultados con todas las unidades negativas

La ecuación general para calcular el valor de estimación de Spearman-Kärber es:

$$U_{sk} = U_k - \frac{d}{2} - \frac{d}{n} \sum_{i=1}^{k-1} r_i$$

Ecuación 8. Valor de estimación de Spearman-Kärber

Donde U_{sk} es la estimación de Spearman-Kärber; U_k es el tiempo de exposición en el que todas las unidades son negativas; U_1 , el mayor tiempo de exposición en que ninguna de las unidades son negativas, d , intervalo de tiempo entre los tiempos de exposición, n , el número de repeticiones en cada tiempo de exposición; r_i , número de repeticiones negativas en cada tiempo de exposición.

Ejemplo:

Nº de prueba	Tiempo de exposición (U)	Nº de unidades contenedoras (n)	Nº de réplicas negativas (r)
1	0	10	0
2	2	10	0
3	4	10	1
4	6	10	3
5	8	10	7
6	10	10	9
7	12	10	10
8	14	10	10

Tabla 3. Datos para calcular el Valor D por del método Spearman-Kärber

$$U_{sk} = U_k - \frac{d}{2} - \frac{d}{n} \sum_{i=1}^{k-1} r_i$$

- $U_1 = 2$ Mayor tiempo de exposición cuando ninguna de las unidades son negativos.
- $U_k = 12$ Tiempo de exposición en que todas las unidades son negativas.
- $U_{k-1} = 10$ Tiempo de calentamiento antes de que U_k sea igual al Nº de réplicas.
- $d = 2$ Intervalo de tiempo entre los tiempos de exposición.
- $n = 10$ Número de repeticiones en cada tiempo de exposición.
- $\sum_{i=1}^{k-1} r_i = 20$ Sumatoria de réplicas negativas de U_1 a U_{k-1}

$$\frac{d}{2} = \frac{2}{2} = 1$$

$$\frac{d}{n} = \frac{2}{10} = 0.2$$

$$U_{sk} = 12 - 1 - (0.2 \times 20) = 7$$

Una vez que el valor de estimación U_{sk} de Spearman-Kärber se conoce, el valor D se puede calcular mediante la siguiente ecuación en la cual 0.2507 es la constante de Euler:

$$D = \frac{U_{sk}}{\log N_0 + 0.2507}$$

Ecuación 9. Cálculo del valor D por el método Spearman-Karber

$$N_0 = 10^8$$

$$\log N_0 = 8$$

$$D = \frac{U_{sk}}{\log N_0 + 0.2507}$$

$$D = \frac{7}{8 + 0.2507}$$

$$D = 0.85 \text{ minutos}$$

4.10.8.4 Método Stumbo-Murphy-Cochran

El método Stumbo-Murphy-Cochran se considera un método de análisis estadístico que utiliza el enfoque del número más probable, requiere la concentración de inóculo de la unidades contenedoras (Agalloco & Carleton, 2008). Se calcula mediante:

$$D = \frac{U}{\log A - \log B}$$

$$B = 2.303 \log \frac{n}{q}$$

Ecuación 10. Cálculo del valor D por el método Stumbo-Murphy-Cochran

Donde U es el tiempo de calentamiento a una temperatura determinada; A, número inicial de microorganismos en cada réplica.

Donde n es el número total de repeticiones; q , el número de repeticiones con crecimiento negativo.

Cuando la fracción de réplicas de unidades negativas es pequeña, el número relativo de los sobrevivientes por unidad positivos son relativamente grandes. El método Stumbo-Murphy-Cochran utiliza esta información para desarrollar una estimación del valor D en cada tiempo de exposición.

$$D_T = \text{promedio } (D_1 + D_2 + D_3)$$

Ecuación 11. Estimación del valor D Stumbo-Murphy-Cochran por tiempo de exposición

Calculando D_1 :

$$N_{U_1} = \ln \frac{n}{r}$$

$$D_1 = \frac{U_1}{\log N_0 - \log N_{U_1}}$$

Calculando D_2 :

$$N_{U_2} = \ln \frac{n}{r}$$

$$D_1 = \frac{U_2}{\log N_0 - \log N_{U_2}}$$

Calculando D_3 :

$$N_{U_3} = \ln \frac{n}{r}$$

$$D_1 = \frac{U_1}{\log N_0 - \log N_{U_3}}$$

Dónde N es la concentración del inóculo de las unidades contenedoras, U es el tiempo de calentamiento a una temperatura determinada.

El método Stumbo-Murphy-Cochran se puede utilizar con datos limitados, pero la precisión de la estimación se incrementa por el uso de los tiempos de exposición adicional.

Ejemplo:

Una serie de pruebas se realizaron con una población en indicadores biológicos de 10^6 a $121,1^\circ \text{C}$. Después de cada réplica los indicadores biológicos se cultivaron en los medios de cultivo y se incubaron durante 48 horas.

Tiempo de exposición (U)	Nº de réplicas (n)	Nº de réplicas negativas (r)
2	10	0
4	10	1
6	10	2
8	10	7
10	10	10
12	10	10

Tabla 4. Tabla de datos para calcular el valor D por el método Stumbo-Murphy-Cochran

$$N_0 = 10^6$$

Calculando D_1

$$N_{U_1} = \ln \frac{10}{1}$$

$$N_{U_1} = 2.302$$

$$D_1 = \frac{4}{6.0 - 0.362}$$

$$D_1 = 0.71$$

Calculando D_2

$$N_{U_2} = \ln \frac{10}{2}$$

$$N_{U_2} = 1.609$$

$$D_2 = \frac{6}{6.0 - 0.207}$$

$$D_2 = 1.04$$

Calculando D_3

$$N_{U_3} = \ln \frac{10}{7}$$

$$N_{U_3} = 0.357$$

$$D_3 = \frac{8}{6.0 - (-0.448)}$$

$$D_3 = 1.24$$

Calculando D_T

$$D_T = \text{promedio} (D_1 + D_2 + D_3)$$

$$D_T = \frac{0.71 + 1.04 + 1.24}{3}$$

$$D_T = 1.0 \text{ minutos}$$

Todos los métodos anteriores funcionan igualmente para todos los métodos de esterilización tales como vapor saturado, el óxido de etileno, calor seco e irradiación. Esto es porque el método de esterilización por lo general causa un fallo en un componente crítico microbiológico o función que conduce a la incapacidad de los microorganismos para reproducirse, y en última instancia para morir.

4.10.9 Valor Z

La determinación del valor D, generalmente se llevan a cabo en condiciones isotérmicas, pero se ha demostrado experimentalmente que la resistencia de un microorganismo puede variar con alteraciones en la temperatura (Boden, 2006). Este cambio en la tasa de inactivación microbiana con un cambio en la temperatura que se conoce como el valor Z y se define como el número de grados de cambio de temperatura necesario cambiar el valor D por un factor de 10. El valor Z sólo es relevante para los procesos de esterilización térmica. Es el valor Z el que permite la integración de los efectos letales de calor como los cambios de temperatura durante el calentamiento y enfriamiento de las fases de un ciclo de esterilización, el valor de Z es un componente necesario de los cálculos que permiten la comparación de la letalidad de esporas a diferentes temperaturas.

Aunque el valor de Z es una característica fundamental de un microorganismo, no es verdaderamente independiente de la temperatura, y es constante sólo para pequeñas diferencias de temperatura del orden de 20 °C a 25° C. Los procesos de esterilización por calor, sin embargo, normalmente se llevan a cabo dentro de un pequeño intervalo de temperaturas, por ejemplo, 110 ° C a 135 °C, por lo tanto, el valor de Z se suele considerar constante.

En ausencia de datos alternativos, la aceptación general de supuestos valores de Z es:

Esterilización por vapor $Z = 10 \text{ }^{\circ}\text{C}$
Esterilización por calor seco $Z = 20 \text{ }^{\circ}\text{C}$

En teoría, el valor de Z puede ser calculado por los experimentos realizados para determinar los valores D a diferentes temperaturas.

El método consiste en la comparación de dos curvas de resistencia térmica representada en papel semilogarítmico. Los valores de D para el microorganismo, se determinan a diferentes temperaturas, y luego se representa en las ordenadas la escala logarítmica y la temperatura se representa en el eje de abscisas. Una línea recta se dibuja a través de los puntos de datos, el valor de z es el número de grados de temperatura para cambiar el valor D por un factor de 10, por ejemplo, 3,0 a 0,3, o 0,7 a 7,0. Debido a que los cálculos podrían cambiar significativamente si se utilizan incorrectamente, siempre es importante tener en cuenta la escala de temperatura cuando se utilizan los valores de Z. Si el cálculo consiste en la esterilización expresado en grados Celsius, el valor de Z debe ser en términos de grados Celsius. Si el cálculo es en grados Kelvin, el valor de Z debe ser en términos de grados Kelvin.

Ejemplo

$D_{105 \text{ }^{\circ}\text{C}} = 20,0$
 $D_{115 \text{ }^{\circ}\text{C}} = 4,5$
 $D_{125 \text{ }^{\circ}\text{C}} = 1.0$

Una vez determinados estos valores D, se trazan en papel semilogarítmico y se dibuja una línea recta como se muestra en la Ilustración 6

Para determinar el valor de Z, se identifica la temperatura en dos valores D. Por ejemplo, según el gráfico de la figura 5 el valor D en 10 unidades se encuentra alrededor de 109 °C y el valor D en una unidad 1,0 cae en 125 °C. La diferencia entre estos dos números ($125\text{ °C} - 109\text{ °C} = 16.0\text{ °C}$) es el valor de Z.

Debido a que esta es una línea recta, cualquier conjunto de números seleccionados en la línea nos dará el mismo valor de Z.

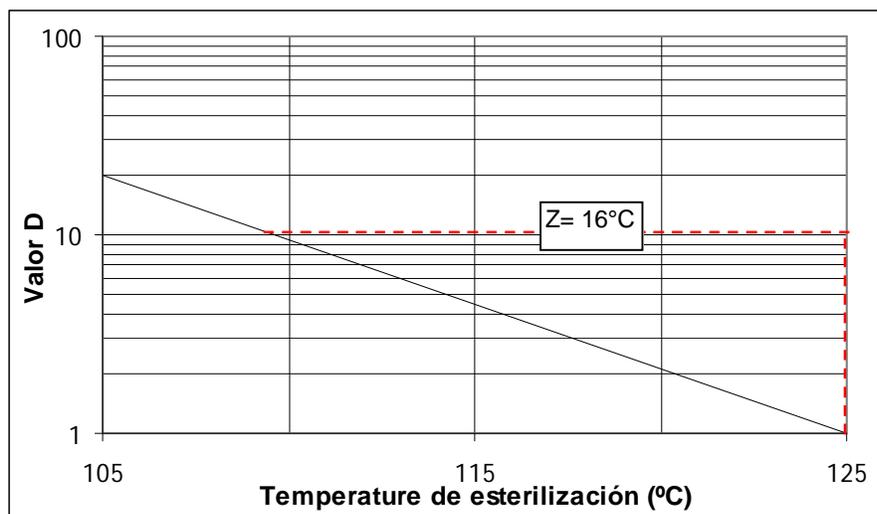


Ilustración 6. Determinación del valor Z

4.11 Validación de esterilización por vapor en autoclave en la industria farmacéutica

La validación de la esterilización por vapor en autoclaves constituye un proceso crítico quizás al que se enfrenta la industria farmacéutica. Es una preocupación primordial de los organismos de regulación farmacéutica.

Los principios subyacentes de la esterilización son aplicables tanto a materiales como a la esterilización terminal de productos parenterales, pero ambos tienen sus características únicas.

Durante muchos años, la validación de la esterilización en autoclave se centró en probar el ciclo de esterilización, con el objetivo de lograr resultados exitosos repetitivos. Se prestó poca atención al mecanismo de esterilización o proceso, el equipo, o los controles aplicados (DeSantis, 2008).

El sistema validación que pide la normatividad actual reconoce la necesidad de un programa integrado de desarrollo y diseño de pruebas. Este programa debe basarse siempre en la relación que se establece entre las funciones del equipo, la infraestructura y especificaciones o criterios de aceptación.

Este entendimiento se extenderá a:

- El diseño del equipo
- Verificación de la instalación de acuerdo con el diseño
- Prueba de funcionamiento para asegurar que los criterios de diseño y los requisitos operacionales se cumplen
- Prueba de desempeño para confirmar que el producto o los materiales y equipos se esterilizan por especificación.
- Las características de las cargas a ser esterilizada
- Diseño de los procesos de esterilización efectivos o ciclos
- Diseño de pruebas de estos ciclos para proporcionar un alto grado de seguridad
- Mantenimiento del estado de controles necesarios para garantizar la calidad de todos los materiales esterilizados.

La validación de un ciclo de esterilización de vapor depende del autoclave de trabajo. El autoclave y sus sistemas de apoyo deben ser diseñados y construidos para ofrecer ciclos de forma reiterada y consistente.

4.11.1 Ciclos de esterilización para materiales

Un ciclo de esterilización incluye una etapa de calentamiento, etapa de exposición a las condiciones de temperatura programadas y una etapa de enfriamiento.

Para lograr ciclos de esterilización repetibles se han diseñado autoclaves que poseen sistemas de pulsación de vapor alternante seguido de excursiones de vacío. Estas pulsaciones de vapor forman parte de la etapa de calentamiento.

El ciclo con pulsación de vacío es uno de los más frecuentes en la industria farmacéutica ya que muchos de los materiales que se someten a este proceso incluyen componentes de plástico o silicón, como carcasas de filtros, mangueras, textiles y materiales de alta densidad como tapones donde las pulsaciones permiten desplazar el aire residual.

La presencia de aire en la cámara modifica la relación presión/temperatura, limitando la transferencia de calor.

Cuando los materiales sometidos al proceso son estables al calor, la degradación térmica no es un factor de preocupación, en estos casos se utiliza un enfoque de sobremuerte para determinar la duración de la etapa de exposición.

El objetivo del ciclo de sobremuerte es asegurar que el nivel de fiabilidad que garantice la esterilidad de los materiales, esto se logra con una reducción de 12 logaritmos de la concentración de los microorganismos.

Este valor se confirma con el uso de indicadores biológicos con una población de 1×10^6 que se reducirá hasta 1×10^{-6} .

El tiempo de exposición para lograr esta reducción se determina de acuerdo al valor D y la concentración del indicador biológico de acuerdo a la Ecuación 3.

4.11.2 Medición de la temperatura

Durante las pruebas para la validación de un proceso de esterilización por vapor es crítico obtener registros de temperatura confiable, el sistema más conocido es el uso de sensores de temperatura llamados termopares, debido a su amplio intervalo de medición de temperatura, robustez, exactitud y rápida respuesta a los cambios de temperatura.

Un termopar es un transductor de temperatura, es decir, un dispositivo que traduce una magnitud física en una señal eléctrica. Está conformado por dos alambres de metales diferentes, estos son cubiertos por materiales flexibles compuestos por politetrafluoroetileno (Morales & Azuaga, 1997)

El termopar más utilizado es el tipo T (cobre-constantano) debido a su alta resistencia a la corrosión con desviación máxima de ± 1.0 °C, y el tipo premium con desviación máxima de ± 0.5 °C.

Los termopares deben ser calibrados contra un patrón de referencia con trazabilidad al patrón nacional de temperatura, deben tener mayor precisión, exactitud e incertidumbre caracterizada.

El método de calibración es por comparación, requiere que el patrón de referencia y los termopares bajo calibración estén simultáneamente en una fuente de temperatura altamente estable y uniforme. La fuente de temperatura puede ser un baño o bloque de temperatura controlada.

El criterio de aceptación de la calibración de los termopares no debe ser mayor que de la desviación máxima de los mismos. Los termopares que no cumplan con este criterio no pueden utilizarse para las pruebas.

La calibración de los termopares debe llevarse a cabo a dos temperaturas dentro del intervalo de medición deseado. Si el termopar cumple el criterio de aceptación, entonces es permitido aplicar un factor de corrección para llevar la lectura termopar lo más cercano a la lectura del patrón de referencia.

4.11.3 Calificación de la autoclave

4.11.3.1 Calificación de diseño

La calificación de diseño asegura de que la autoclave cumple con las especificaciones definidas por el usuario en base al proceso de esterilización con un enfoque preventivo. Estos requisitos incluyen la capacidad mantener las condiciones de temperatura la cámara. Los requerimientos críticos que se consideran son:

- Medición de temperatura
- Medición de presión
- Nivel de vacío
- Distribución y uniformidad de temperatura a lo largo de la cámara
- Capacidad de mantener la temperatura en el punto de control
- Características para el control de la secuencia de las operaciones
- Alarmas para indicar las condiciones de fuera de especificación

El requerimiento del usuario no debe ser especificaciones de ingeniería. Por lo tanto, cuestiones de diseño como la elección de la instrumentación, tamaño de línea y la configuración del equipo son llevados a cabo por el fabricante y un equipo de trabajo conformado por expertos en ingeniería.

Una vez que se verifica que la autoclave cumple con los requerimientos y especificaciones establecidas se prepara la siguiente etapa de calificación.

4.11.3.2 Calificación de instalación

Existen varias características comunes que se deben verificar de la instalación de un autoclave (Ransdell, 1996):

- Recipiente de presión construida según un código nacional o internacional reconocido.
- Chaqueta de vapor y aislamiento para conservar la temperatura característica de la esterilización, están diseñadas principalmente para calentar la masa de metal del recipiente de presión y limitar la pérdida de calor.
- Mecanismo de seguridad de puertas para evitar abrir mientras el autoclave está bajo presión. El dispositivo de bloqueo puede actuar directamente por la presión interna, o indirectamente a través de control automático.
- Bomba de vacío, dren y trampa de vapor para eliminar de manera eficiente aire o condensado de la cámara, la trampa se abre debido a la reducción de temperatura y el condensado se descarga.
- Sistema de control: Se lleva a cabo normalmente por un PLC para controlar y supervisar el proceso.
- Sistema de recopilación de datos.
- Filtro de ventilación.
- Alivio de presión por medio de válvulas de seguridad.
- Instrumentos críticos de medición y control del equipo (indicadores, registradores, controladores de temperatura, presostatos, etc): Deben ser calibrados para demostrar que las lecturas son confiables.

4.11.3.3 Calificación de operación

Después de que el equipo ha sido revisado para su correcta instalación de acuerdo al protocolo de calificación de instalación, es necesario determinar que el autoclave funcione según el diseño (Lewis, 2002).

La calificación de operación se basa fundamentalmente en la evaluación del funcionamiento del equipo a través de pruebas que retan los instrumentos de medición y control de temperatura. Algunas pruebas incluidas en el protocolo son las siguientes:

- Instrumentos críticos de medición y control del equipo: El funcionamiento garantiza lecturas de los parámetros críticos del proceso.
- Tiempo de ciclo. La precisión del tiempo se determinado de modo que garantice la duración del ciclo de acuerdo a lo programado.

- Cierres y aperturas de puerta: Los bloqueos deben operar de tal manera que las puertas no sean abiertas si el ciclo no ha terminado o si la temperatura es demasiado alta para un manejo seguro. Si una autoclave está equipada con puertas dobles la puerta el sistema de bloque solo permite la apertura de una puerta a la vez.
- Suministro de Vapor: Si las características del vapor no son óptimas (pureza, saturación y presión), disminuye la eficiencia en la transferencia del calor y por lo tanto falla el proceso de esterilización.
- Fugas: Las puertas y las conexiones de la autoclave debe ser diseñado de tal forma que no permita fugas durante el funcionamiento.
- Sistema de control: Se debe verificar la secuencia de operaciones que realiza la autoclave en base a la programación del PLC.
- Alarmas: Debe verificarse el funcionamiento de las alarmas del equipo como paro de emergencia y señal emitida al fallar un componente del equipo.

4.11.3.4 Calificación de desempeño

Para la calificación de desempeño se realiza un estudio de distribución de temperatura en cámara vacía para demostrar la uniformidad y estabilidad de temperatura así como la identificación de puntos fríos o calientes.

El estudio de distribución de temperatura inicia desde el arranque del equipo hasta fin de ciclo, se analiza el comportamiento de las pulsaciones y excursiones de vacío ya que el aire atrapado o estratificado puede causar variaciones de temperatura significativos dentro de la cámara de la autoclave.

La variación de temperatura se establece en base al requerimiento de usuario, la USP recomienda una variación de ± 1.0 °C una vez que se ha estabilizado la temperatura en el punto de control (U.S. Pharmacopeial Convention, 2013). La uniformidad de temperatura puede ser afectada por el tipo, tamaño e instalación de la autoclave.

Es importante señalar que se espera que el dren de la autoclave sea el punto más frío y se localice fuera de la cámara del equipo; es aquí donde se ubica el sensor que controla la temperatura de operación.

Los termopares utilizados en los estudios de distribución de calor se deben colocar homogéneamente en la cámara del equipo. Se debe considerar colocar un termopar adyacente al sensor que controla la temperatura de operación, se recomienda que no se incluya los registros obtenidos de este punto para análisis de datos y de los criterios de variación de temperatura establecidos.

Los termopares deben ser suspendidos para evitar el contacto con las paredes de la cámara u otras superficies sólidas, el registro de temperaturas deben obtenerse a intervalos regulares de tiempo.

Posterior a los estudios de la calificación de desempeño, deben llevarse a cabo estudios para la validación del proceso con las cargas para determinar si la configuración de carga influye en el perfil de distribución de temperatura obtenido de los estudios de la cámara vacía.

4.11.4 Validación del proceso de esterilización

Para la validación del proceso de esterilización se debe realizar un estudio de penetración de temperatura por triplicado con resultados satisfactorios. Con los estudios de penetración de temperatura se persigue establecer el perfil de temperatura para demostrar la eficiencia con que el vapor saturado es capaz de penetrar en los materiales que se pretenden esterilizar.

En este estudio los termopares se colocan en el interior de los materiales que conforman la carga, para identificar los puntos fríos que se originan debido a la tasa de transferencia de calor variado y asegurar que dichos elementos están expuestos a las condiciones deseadas de temperatura.

El análisis de datos de temperatura se realiza de los materiales que integran las cargas máximas, para establecer el perfil de temperatura que represente el peor caso; los estudios de carga mínima no son necesarios, sin embargo proporcionan datos que brindan seguridad adicional al estudio.

Para cargas con materiales de composición similar la colocación de termopares deberá ser homogénea, incluyendo el centro geométrico y esquinas.

Cuando los materiales que integran la carga son de diferente composición el punto frío se relaciona con un objeto en específico, por lo tanto es importante colocar termopares en cada tipo de componente de la carga.

Los datos obtenidos del estudio se pueden utilizar eventualmente para controlar el tiempo de exposición en los ciclos de operación rutinaria para ajustar y proporcionar un tiempo de exposición adecuado. Este procedimiento asegura que el material más frío y, por consiguiente, toda la carga esté expuesto a las condiciones deseadas de temperatura y letalidad.

4.11.5 Reto microbiológico

Dado que los estudios de penetración de calor sólo nos brinda un criterio físico con la medición de temperatura, se realiza simultáneamente el desafío con indicadores biológicos para controlar ciclos de esterilización establecidos evaluando la capacidad de proceso empleado para descontaminar. El objetivo de los indicadores es proveer de un factor de mayor seguridad al proceso de esterilización. La sobrevivencia o destrucción de las esporas indica la eficacia del ciclo de esterilización.

Se pueden utilizar tiras de esporas disponibles comercialmente, o se realiza una inoculación en la superficie del material y posteriormente se lleva a cabo una recuperación de los materiales inoculados.

En el proceso de esterilización por vapor se emplean comúnmente esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, debido a la resistencia que presenta a este proceso.

Cuando se utilizan tiras de esporas deben ser colocadas adyacentes al termopar de penetración de temperatura. Después del ciclo de esterilización, el inóculo recuperado o las tiras de esporas se sumergen en un medio de crecimiento hasta siete días. La temperatura de incubación para *Geobacillus stearothermophilus* es de 50 a 55 °C. El resultado esperado es que todas las muestras presenten crecimiento negativo, se incuba un control positivo

(tiras no esterilizadas) y un control negativo (medio de crecimiento sin esporas) como control para proporcionar seguridad adicional.

4.11.6 Reporte de validación

El reporte es la directriz para el mantenimiento de un proceso de esterilización validado. Describe el ciclo y las condiciones de funcionamiento para garantizar la esterilidad y explica con detalle cómo el grupo de producción puede obtener resultados consistentes y reproducibles.

Se utilizan varios formatos y grados de complejidad en la redacción de informes. Sin embargo, todos los informes deben contener algunos elementos comunes:

- Identificación del reporte o código interno.
- Referencia al protocolo en virtud del cual se llevó a cabo.
- Resumen de condiciones operativas y controles en proceso.
- Resumen y análisis de los resultados experimentales
- Descripción de cualquier desviación de los resultados esperados.

En el reporte se puede incluir alguna referencia de cómo fue elegido el ciclo, desarrollo del ciclo, características del ciclo y nivel de letalidad alcanzado y se destacan los resultados de los indicadores biológicos.

Toda la documentación generada como registros, impresiones, bitácoras etc. deben ser fácilmente accesibles.

4.11.7 Mantenimiento del estado de validación

El mantenimiento de la validación a menudo se pasa por alto, este paso se debe programar para garantizar que las condiciones establecidas son controladas y mantenidas. Debido a la naturaleza crítica de la esterilización se recomienda realizar estudios de penetración de calor de los patrones de carga y retos microbiológicos. Muchas empresas deciden realizar sólo un estudio de este tipo de un patrón de carga determinado.

Se emite un reporte del mantenimiento de la validación que incluye algunos puntos esenciales:

- Programa de calibración para todos los instrumentos críticos de medición y control del equipo esenciales para el funcionamiento de la autoclave
- Programa de mantenimiento preventivo para todos los componentes del sistema.
- Bitácoras y registros accesibles de operación
- Procedimientos de operación vigentes
- Cumplimiento al sistema de control de cambios y No conformidades
- Calificación del personal operativo

Estos temas son necesarios en la revisión para establecer si la validación requiere pruebas adicionales.

La base de mantenimiento de validación continua es la comunicación entre los diversos grupos de funcionamiento (fabricación, control de calidad, validación u otros). Los procesos de esterilización fueron los primeros para el que se subrayó la validación. Continúan siendo los más fuertemente revisados.

CAPÍTULO 5. METODOLOGÍA

5.1 Tipo de estudio

El presente estudio es de carácter exploratorio.

5.2 Población y muestra

El presente proyecto se deriva de la publicación en el diario oficial de la federación de la norma oficial mexicana NOM-059-SSA1-2013. Laboratorios Mexicanos formo un comité para la interpretación de la norma Posteriormente se elabora un proyecto para cumplir con las nuevas demandas, el cual incluye la remodelación de área y adquisición de nuevos equipos: campana de flujo laminar y autoclave de vapor.

El área de Validación se enfoca a la calificación de las nuevas áreas y equipos.

La muestra del presente trabajo es basada en el Autoclave por Vapor de Agua Modelo VAP 5001 PHARMA VL/DP marca HOGNER.

5.3 Criterios de inclusión

- a) Recuento total de esporas viables de indicadores biológicos en cartuchos auxiliares del proceso de validación de esterilización.
- b) Validación del proceso de esterilización del patrón de carga conformado por textiles del Autoclave por Vapor de Agua marca HOGNER.
- c) Validación del proceso de esterilización del patrón de carga conformado por materiales de fabricación del Autoclave por Vapor de Agua marca HOGNER.

5.4 Criterios de eliminación

- a) Calificación de diseño, instalación y operación del Autoclave por Vapor de Agua Modelo VAP 5001 PHARMA VL/DP marca HOGNER.

5.5 Criterios no inclusión

- a) Ciclos abortados por causas ajenas al equipo derivados de la falla de servicios al equipo como suministro eléctrico, aire comprimido, vapor.
- b) Ciclos abortados por causas ajenas al equipo derivado de la incorrecta operación del equipo de medición de temperatura Validator.

5.6 Variables del Estudio

- a) Presión
- b) Temperatura
- c) Tiempo de exposición

5.7 Materiales y equipos de medición para el estudio

a) Sistema autónomo de validaciones térmicas Validator 2000 de GE-Kaye.

Para fines del presente trabajo se hará referencia al equipo como: Validator

El Validator es un instrumento autónomo integrado por hardware y software, equipado con una fuente de alimentación universal. Incluye una interfaz de recopilación de datos durante el estudio por un disquete de 3 ½" y memoria interna para proteger los datos (GE. Kaye Instruments Inc, 2004). El Validator tiene una pantalla de visualización monocromática, teclas de programación, acceso a menú y navegación (Ilustración 7).



Ilustración 7. Parte frontal
(GE. Kaye Instruments Inc, 2004)

En la parte posterior del Validator se localizan puertos para conexiones eléctricas y de comunicación. Cada puerto de conexión está marcado con un icono que representa su función (Ilustración 8)

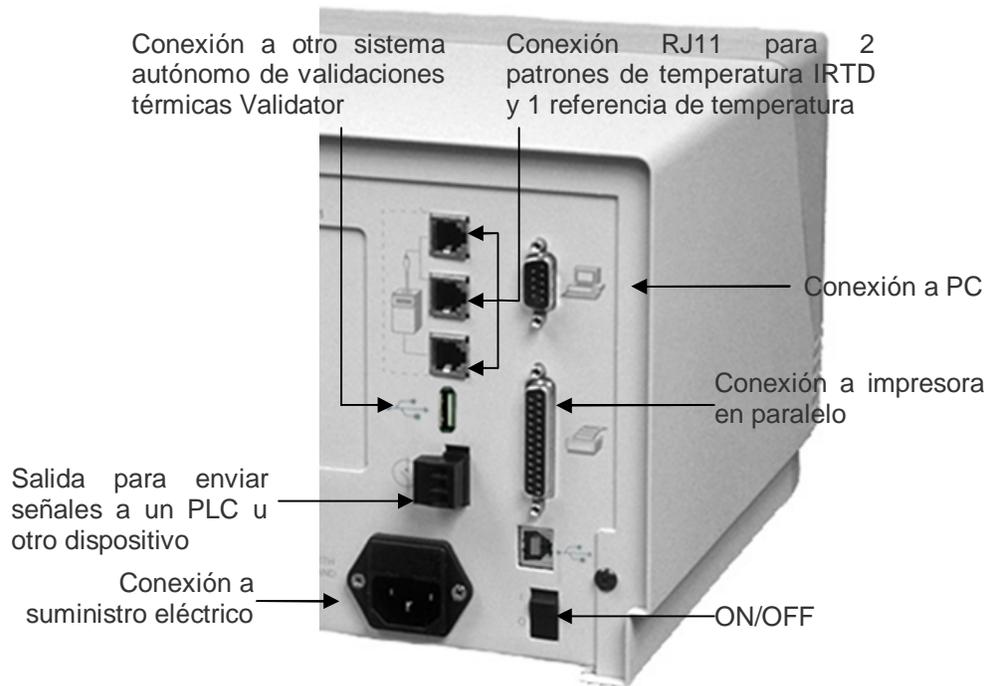


Ilustración 8. Conexiones eléctricas y de comunicación (GE. Kaye Instruments Inc, 2004)

b) Módulos SIM

El Validador utiliza módulos de sensor de entrada SIM (por sus siglas en inglés *Simple Input Module*) (GE. Kaye Instruments Inc, 2004) para proporcionar una conexión segura de los termopares, se encuentran protegidos por carcasa para minimizar el contacto con el polvo, humedad, ruido eléctrico y golpes, se puede configurar para un máximo de tres módulos SIM (Ilustración 9)



Ilustración 9. Entradas para conexión de módulos SIM
(GE. Kaye Instruments Inc, 2004)

Cada módulo SIM posee 12 conexiones de entrada (Ilustración 10) y una memoria incorporada que almacena las desviaciones de calibración (GE. Kaye Instruments Inc, 2004)

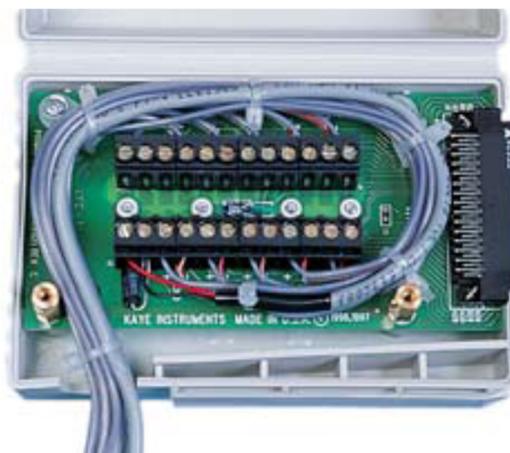


Ilustración 10. Conexiones de entrada del módulo SIM

c) Termómetro de resistencia de platino, modelo M2801 IRTD-400 marca Kaye

Es un sistema de medición de temperatura estándar: el IRTD (por sus siglas en inglés *Intelligent Resistance Temperature Device*) se utiliza como estándar de referencia para corregir las lecturas de temperatura de los termopares durante el proceso de calibración, posee una precisión de $\pm 0,025$ °C con un rango de funcionamiento de -195 a 420 °C (GE. Sensing and Inspection Technologies, 2009).



Ilustración 11. Termómetro de resistencia de platino

d) Bloque de temperatura controlada modelo LTR-40/140

El bloque de temperatura controlada es una fuente de calor que se utiliza como referencia de temperatura (Licea Panduro & Méndez Lango, 2008). Proporciona la estabilidad de temperatura que requiere la calibración de los termopares (Ilustración 12).

El rango de control de temperatura va de -40 a 140 °C con condiciones de operación de 5 a 50 °C



Ilustración 12. Bloque de temperatura controlada

e) Termopares tipo T duplex (cobre/constatano) con aislamiento de Teflón, de cable flexible calibre 24



Ilustración 13. Termopar tipo T

f) Software Validator® 2000 versión 2.22

El software de validación generación de informes de datos de la calibración y verificación de la calibración, los cuales se imprimen de forma directa evitando la edición para mantener la integridad de la información (GE. Kaye Instruments Inc, 2004).

Generar informes que contienen el registro de datos recopilados durante el estudio y exportar los datos recopilados en un archivo de hoja de cálculo en Excel para análisis de información.

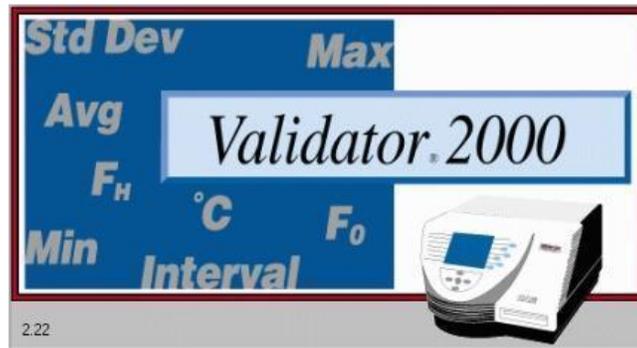


Ilustración 14. Software Validator® 2000 versión 2.22

g) Equipo de cómputo.

Para ejecutar el software Validator® 2000 se utiliza una PC que permite la comunicación entre el software y el hardware de validación. Las características de la PC utilizado son:

- Microprocesador Intel Celeron de 1596 MHz
- Velocidad del procesador de al menos 1000 MB de RAM
- Microsoft® Windows 7 (32 bits)
- Microsoft Office 2007
- Puerto USB 2.0 para comunicarse con el hardware de validación
- Pantalla en color resolución de 1280 x 800

h) Indicador biológico EZtest

El EZtest indicador biológico es un indicador auto-contenido, con lectura visual de cambio de color por vire del púrpura de bromocresol para interpretación de 24-48 horas.

Está compuesto de un tubo con medio de cultivo a base de caseína, y una tira impregnada con una población 10^6 esporas de *Geobacillus stearothermophilus*. Posee un indicador químico incluido en la etiqueta y cambia de color pasando del azul al negro una vez que se ha producido la exposición a la esterilización (Mesa Lab, 2012).



Ilustración 15. Indicador biológico

5.8 Procedimiento general

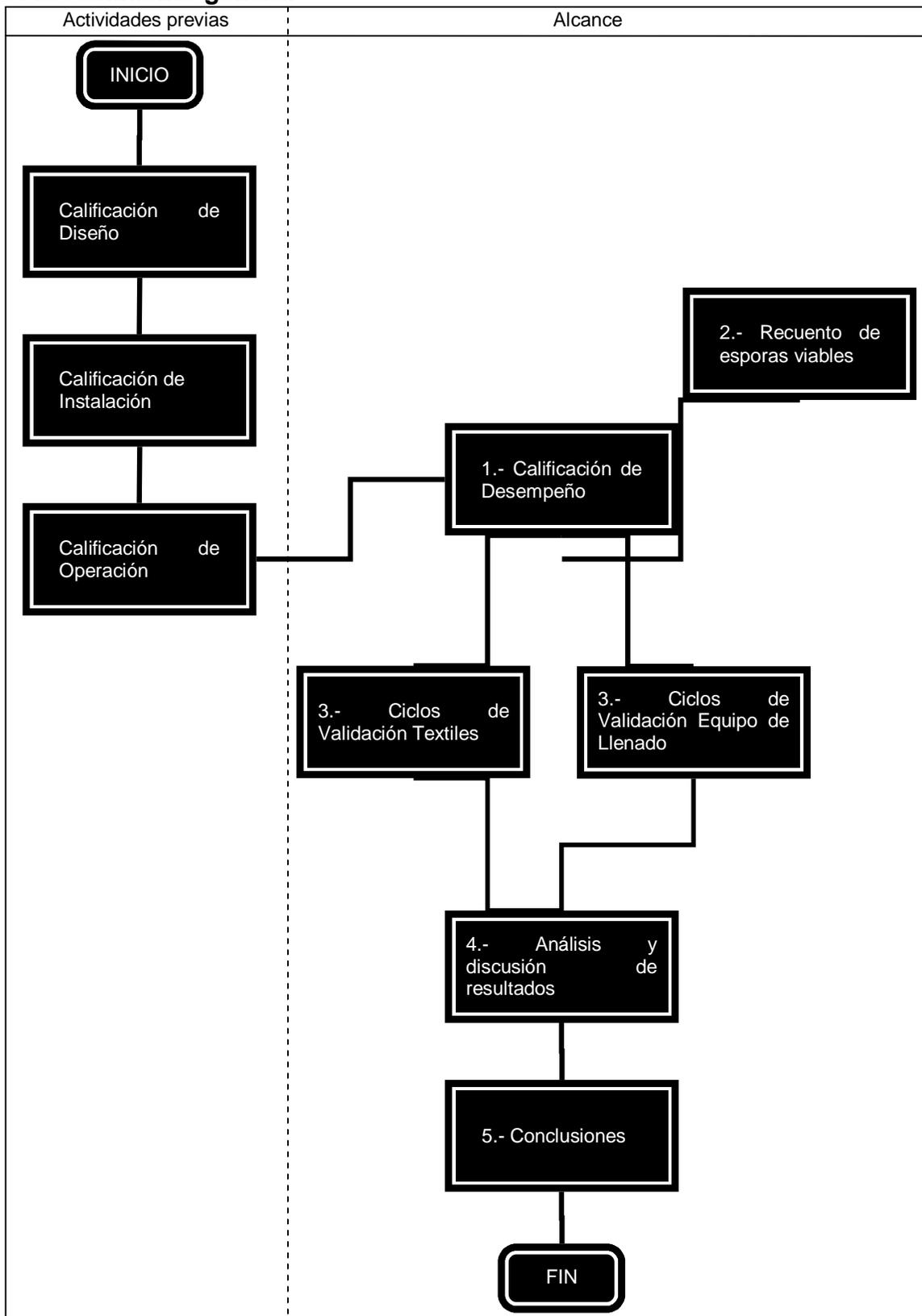


Ilustración 16. Diagrama de flujo del procedimiento general de estudio

Para la validación del proceso de esterilización fue necesario realizar las etapas de calificación previas: Calificación de Diseño, Calificación de Instalación, Calificación de Operación.

A continuación se da una breve reseña de las actividades ejecutadas en las etapas de calificación previa.

5.8.1 Calificación de diseño

La calificación comienza con la calificación de diseño, se definen los requerimientos, las especificaciones y descripción del equipo. Es una verificación documentada de que el diseño del autoclave es conveniente para el propósito proyectado:

- Requerimiento de usuario
 - Operación automática
 - Zonificación
 - Registro de datos
 - Material de construcción
 - Sistemas de seguridad
 - Instrumentación
 - Acceso operacional
 - Servicios
 - Capacidad
- Orden de compra

5.8.2 Calificación de instalación

Se realizó la comparación del autoclave contra las especificaciones del fabricante para confirmar que el equipo está correctamente instalado. La importancia de este paso está en la verificación y comparación de las características diseñadas para el equipo frente a las instaladas:

- Identificación del autoclave
- Dimensiones y capacidad de la cámara del autoclave (1.3 m³)
- Diseño de puertas (puerta de carga y puerta de descarga en área aséptica de apertura unilateral)
- Componentes de estructura y construcción (presostatos, PLC, bomba de vacío, válvulas, filtros.)
- Software asociado a la instalación
- Sellos y empaques
- Instalación de servicios (agua, vapor limpio, vapor industrial, suministro eléctrico, aire comprimido)
- Materiales de construcción de la cámara del autoclave (acero inoxidable 316 L)
- Listado de instrumentos críticos de medición y control (manómetro, válvulas de seguridad, sensores de temperatura)
- Calibración de instrumentos críticos de medición y control
- Procedimientos de limpieza y mantenimiento con evidencia de capacitación de personal
- Programa de Mantenimiento preventivo
- Lista de refacciones y partes de recambio
- Diagrama de tubería, diagrama eléctrico
- Manual

5.8.3 Calificación de operación

Se confirma que los componentes del equipo estén operando de acuerdo a las especificaciones del fabricante de manera consistente.

- Encendido y apagado
- Verificación de la operación y programación del equipo por panel táctil de acuerdo al manual
- Funcionamiento de componentes principales
- Procedimiento de operación con evidencia de capacitación de personal
- Reto de alarmas y paro de emergencias.
- Pruebas de niveles de acceso al panel de control
- Operación de puertas
- Impresión de datos

A partir de esta etapa es necesario demostrar por medio de evidencia objetiva que la operación del autoclave, bajo parámetros establecidos, producen de manera consistente un proceso que cumple repetitivamente los requerimientos predeterminados, para cada una de las situaciones previstas.

5.8.4 Descripción General del Autoclave

Autoclave de vapor de agua con doble puerta deslizante horizontal, calefacción de cámara por vapor puro de línea, calefacción de camisa por vapor industrial de línea.

- **Marca:** HOGNER
- **Modelo:** VAP 5001 PHARMA

La operación del autoclave por Vapor de Agua VAP 5001 PHARMA VL/DP se realiza mediante un panel táctil, el cual permite visualizar e ingresar información al proceso tocando los elementos representados gráficamente (Industrias Högner S.A., 2008).

El equipo cuenta con una impresora de matriz de puntos que permite la impresión de los mensajes de alarma, las variables del proceso y el registro del ciclo. Además cuenta con la función de paro de emergencia que ante una situación de emergencia desactiva todas las válvulas de control, así como la calefacción y la carga de agua. La cámara está fabricada con acabado sanitario en acero inoxidable 316.

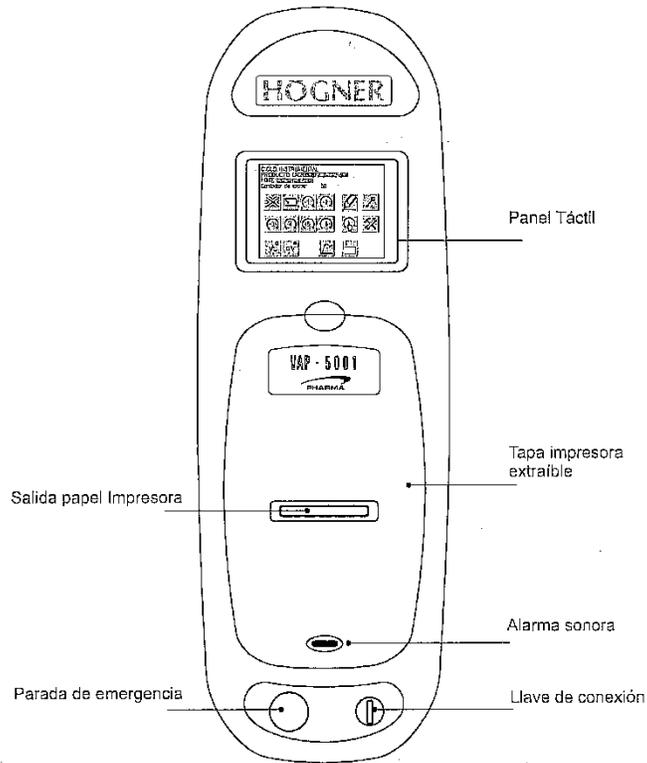


Ilustración 17. Vista frontal del panel de control

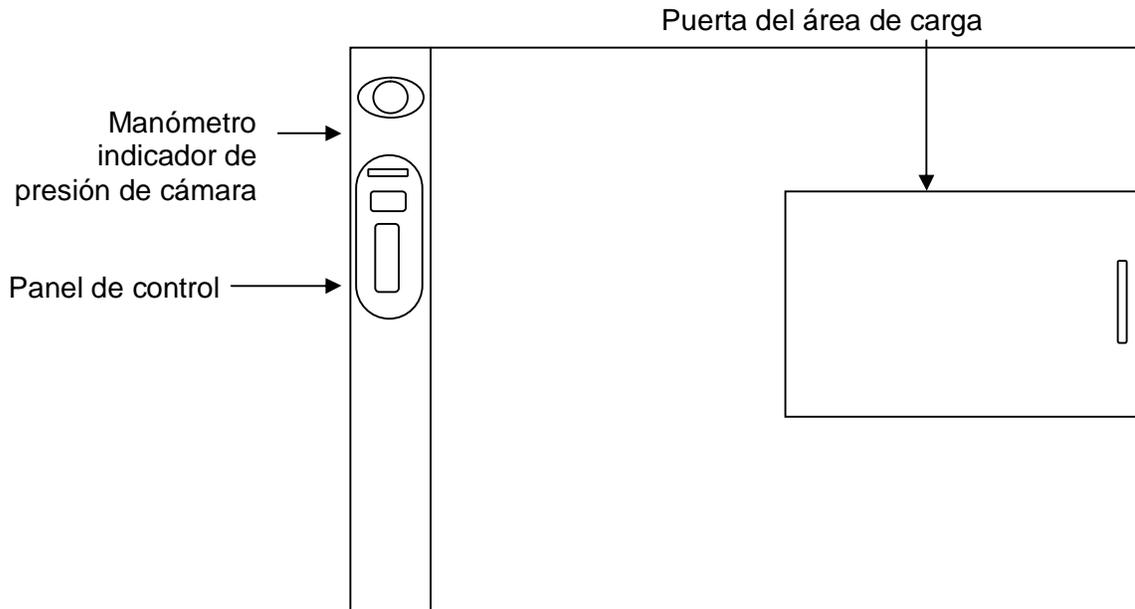


Ilustración 18. Vista frontal del autoclave (área de carga)

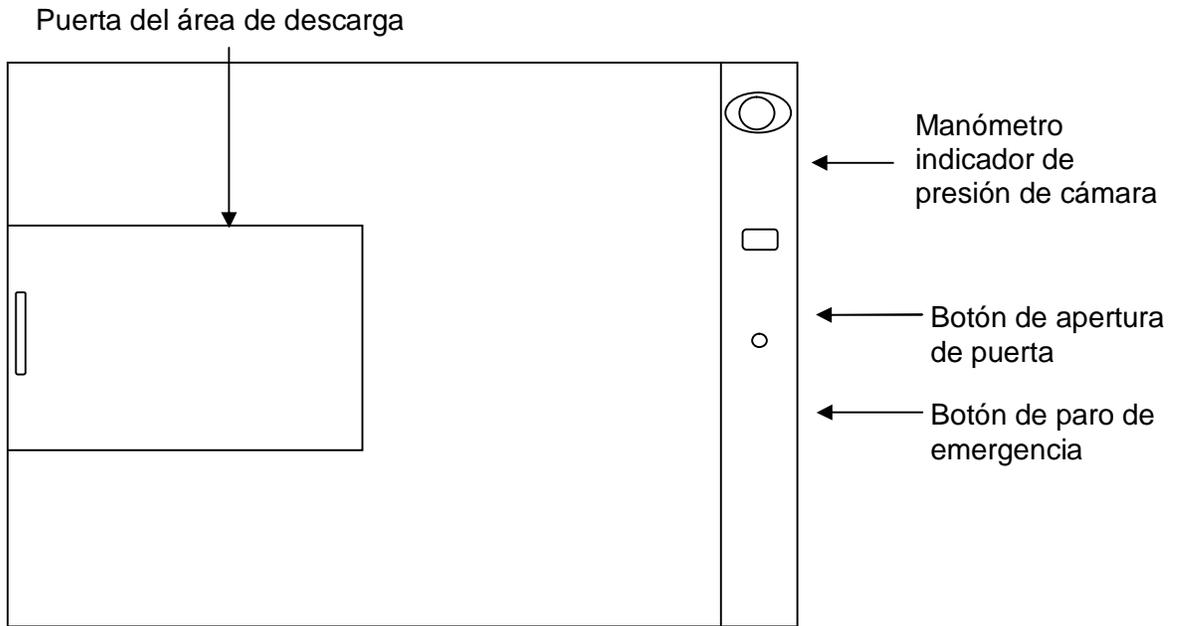


Ilustración 19. Vista posterior del autoclave (área de descarga-área aséptica)

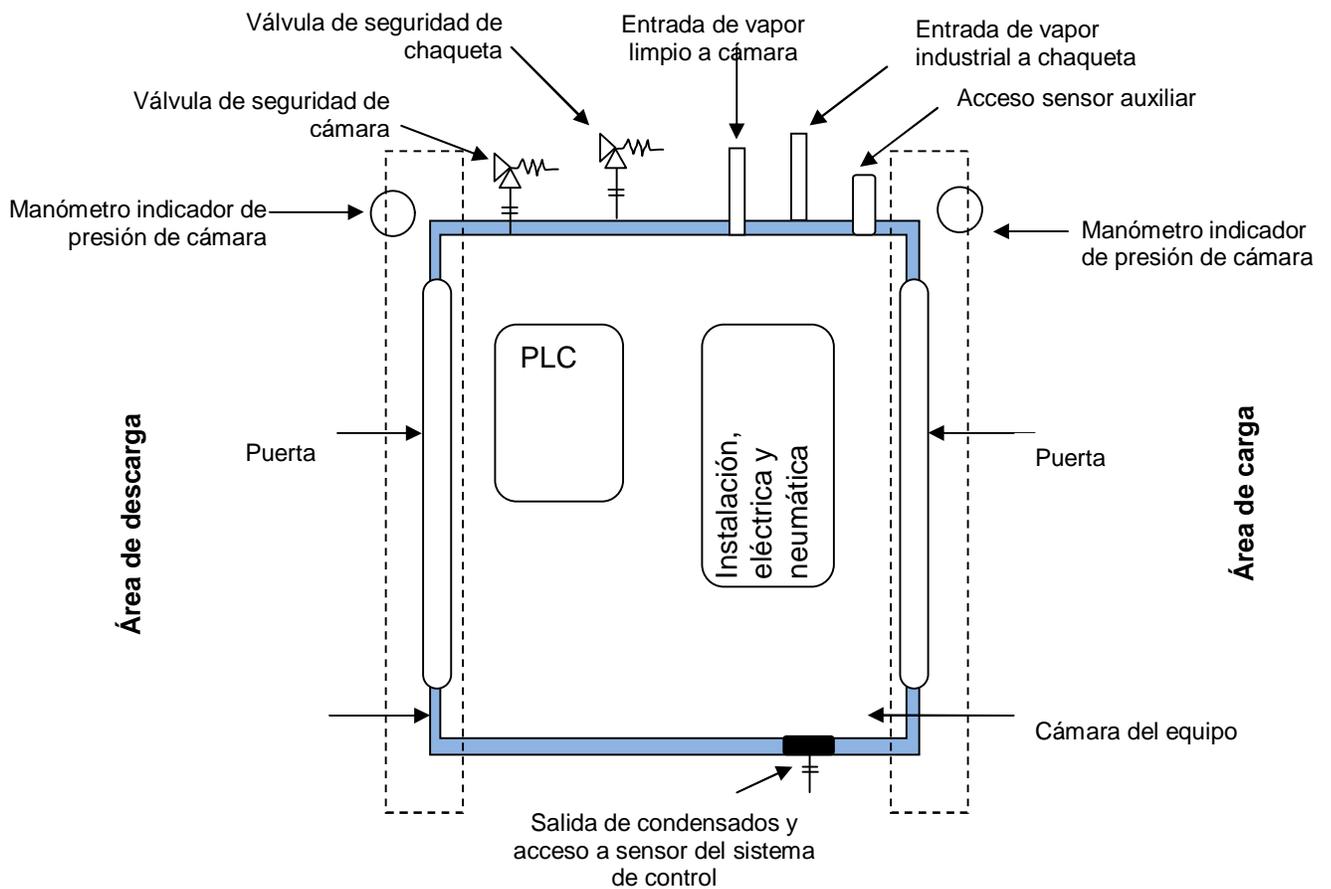


Ilustración 20. Vista lateral del autoclave del área técnica

5.8.5 Estudio de distribución en cámara vacía

Para la Calificación de Desempeño se realiza un estudio de distribución de temperatura en cámara vacía para verificar que el equipo sea capaz de controlar y mantener la temperatura de operación programada, así como determinar el perfil de uniformidad temperatura, identificando la presencia de puntos fríos o calientes.

Para ejecutar el estudio se diseñó un protocolo en el cual se describen las pruebas, así como la metodología a seguir. Las pruebas a realizar son:

- Número de termopares
- Parámetros de operación
- Calibración del equipo de medición
- Ubicación de los sensores
- Verificación de la calibración de instrumentos de medición
- Monitoreo de temperatura
- Verificación de calibración del equipo de medición

5.8.5.1 Número de termopares

Suat Kumser (2002) recomienda como mínimo el uso de 12 termopares para estudios de distribución de temperatura, sin embargo no se encontraron referencias o registros de la relación que existe entre el número de termopares respecto a la capacidad de la cámara de los equipos. Se propuso el siguiente criterio considerando la capacidad de la cámara en m³:

Capacidad de la cámara del equipo	Número de termopares junto al sensor del sistema de control	Número mínimo de termopares de distribución
0 a 1 m ³	1	11
1 a 2 m³	1	17
Mayores a 2 m ³	1	23

Tabla 5. Número de termopares para monitoreo de distribución de temperatura

La capacidad máxima de la cámara del equipo es de 1.3 m³ por lo cual se utiliza 1 termopar junto al sensor del sistema de control y 17 termopares de distribución.

5.8.5.2 Parámetros de operación

Se toma como referencia los parámetros de operación de fábrica:

Parámetro de operación	Valor programado
Temperatura programada	121 °C
Tiempo de exposición	15 minutos
Pulsos de vacío	3
Nivel de vacío	-0.76 bar
Presión de vapor para pulsos de vacío	0.9 bar

Tabla 6. Parámetros de operación para estudio de distribución de temperatura

5.8.5.3 Calibración del equipo de medición

Es necesario asegurar que las mediciones del sistema son correctas a través de la calibración, se realiza antes de un estudio y se realiza una verificación de calibración posterior al estudio.

La calibración se realiza por comparación de la lectura de los termopares contra las lecturas de referencia del termómetro patrón de resistencia de platino, se programa para realizarse a 3 puntos de temperatura distribuidos en el rango de temperatura que se desea monitorear: un punto de calibración de temperatura baja, un punto de calibración de temperatura alta y un punto de verificación intermedio.

El rango de temperatura que se desea monitorear oscila entre los 60 °C y 130 °C aproximadamente, abarca el ascenso de temperatura, pulsos de vacío, las pulsaciones de vapor al presurizar la cámara, el ciclo de exposición y descenso de temperatura.

Punto de calibración	Valor programado
Temperatura baja	60 °C
Temperatura alta	140 °C
Verificación	100 °C

Tabla 7. Puntos de temperatura para calibración del equipo de medición

La calibración se realiza con el siguiente procedimiento:

- Se conectan 12 termopares en un módulo SIM y 6 termopares en otro modulo.
- Colocar los módulos SIM en su ranura correspondiente en la parte trasera del Validator 2000
- Se colocan los termopares y el termómetro patrón de resistencia de platino dentro del bloque de temperatura para que ambos estén inmersos en el mismo medio a la misma temperatura (Ilustración 21)

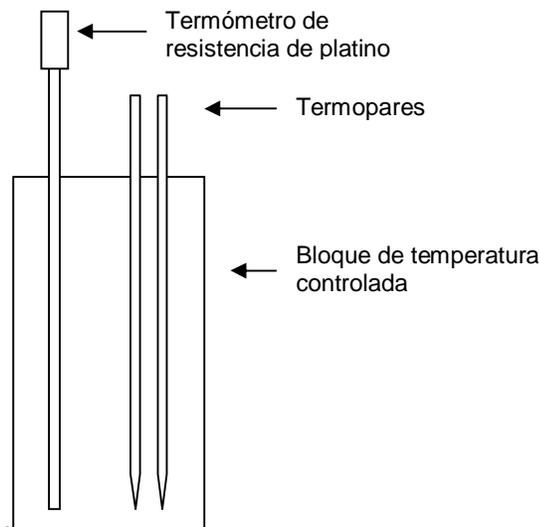


Ilustración 21. Termopares y termómetro de resistencia de platino dentro del bloque de temperatura.

- d) Se conecta el termómetro de resistencia de platino y el bloque de temperatura al Validator de acuerdo a la Ilustración 8.
- e) Se energiza el Validator y el bloque de temperatura para finalmente conectar el Validator al equipo de cómputo.

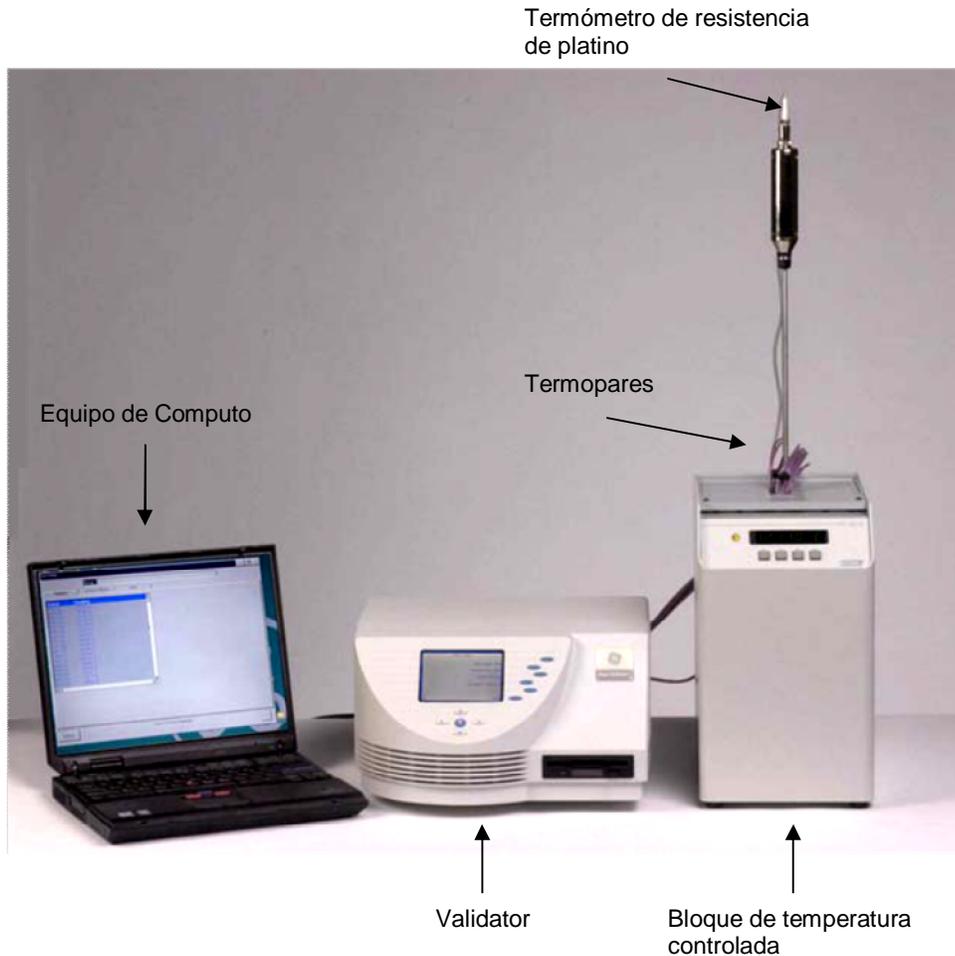


Ilustración 22. Conexión de componentes para calibración

Una vez conectados los componentes (Ilustración 22) se procede a iniciar el Software para iniciar la calibración con el Validator

Se programa el software de validación con los siguientes criterios de aceptación para la calibración de los termopares:

Criterio de aceptación	Valor programado
Estabilidad de termopares	Variación de 0.2 °C por 3 minutos
Criterio de desviación de termopares	±0.5 °C por 3 minutos
Estabilidad del termómetro de resistencia de platino	Variación de 0.012 °C por 2 minutos

Tabla 8. Criterio de aceptación de los sensores para la calibración de termopares

El Validator inicia con la calibración a temperatura baja de 60 °C, continua con la calibración a temperatura alta a 140 °C y finaliza con la calibración en el punto de Verificación a 100 °C con la siguiente secuencia para cada temperatura:

- Calcula la estabilidad de los termopares de temperatura y el termómetro de resistencia de platino.
- Cuando el nivel de variación de temperatura de los termopares inferior a los 0.2 °C y 0.012 °C para el termómetro de resistencia de platino, se registra la desviación de temperatura de los termopares respecto al termómetro de resistencia de platino.
- Posteriormente se realiza un ajuste de temperatura del registro de los termopares respecto al termómetro de resistencia de platino.
- El Validator registra por sextuplicado la desviación de los termopares con las lecturas corregidas.

5.8.5.4 Ubicación de termopares

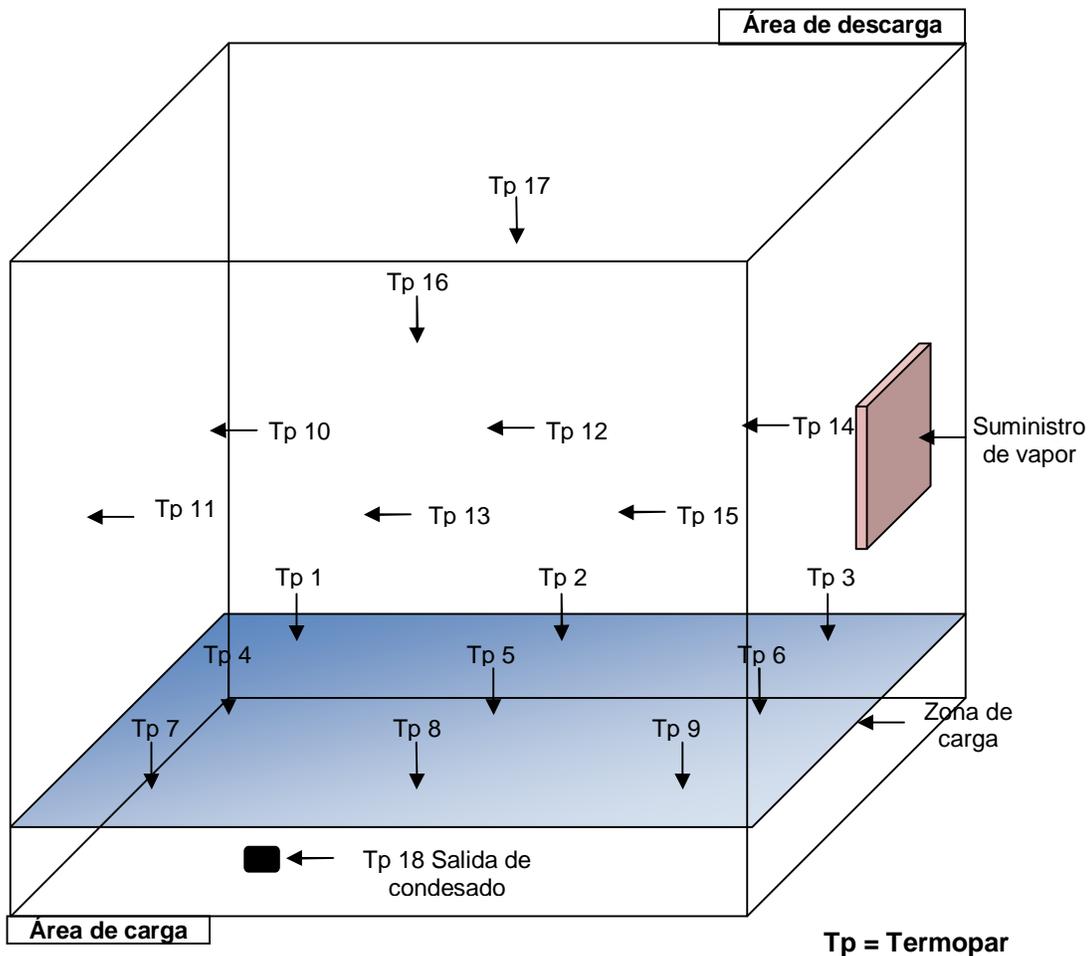


Ilustración 23. Ubicación de termopares del estudio de distribución en cámara vacía

La distribución de los termopares dentro de la cámara del autoclave se realiza de acuerdo a lo siguiente:

- Termopar N° 18 adyacente al sensor de temperatura PT100 de control de temperatura de la cámara del autoclave. El sensor se ubica en la salida de condensados de la cámara del autoclave la cual es una zona de baja temperatura en la cámara.
- Termopar N° 1, 4 y 7 ubicados en la zona de carga más alejada del suministro de vapor.
- El resto de los sensores están distribuidos homogéneamente dentro de la cámara del equipo dándole preferencia a la zona de carga.

Los sensores se colocaron de tal manera que no entraran en contacto con las paredes u otro material dentro del equipo.

5.8.5.5 Control del equipo

Antes de iniciar con el estudio es necesario asegurar que las lecturas de los instrumentos críticos de medición y control del autoclave son confiables.

Se debe revisar que la siguiente instrumentación se encuentre calibrada y con dictamen aprobado:

- Manovacuómetro análogo tipo bourdon de presión de la cámara del equipo, alcance de medición de -1 a 3 bar,
- Sensor de temperatura PT100 con vaina $\varnothing 8 \times 82$ mm acero inoxidable 316 miniclamp para control de temperatura de la cámara del equipo.
- Válvula de seguridad de la cámara del equipo de acero inoxidable 316 conexión clamp $\varnothing 1\frac{1}{2}$ “.
- Válvula de seguridad de la chaqueta del equipo de bronce conexión BSP $\varnothing 1$ ”

5.8.5.6 Monitoreo de temperatura

Se procede al registro del perfil de temperatura con los parámetros de operación que se muestran en la Tabla 6.

5.8.5.7 Verificación de la calibración del equipo de medición

Después de que el monitoreo de temperatura se ha completado, se debe realizar la verificación de calibración para confirmar que las lecturas de los termopares están dentro de los criterios de calibración especificados.

El procedimiento para verificar la calibración y los criterios de aceptación son los mismos de la sección 5.8.5.3. Calibración del equipo de medición sin embargo durante la verificación de la calibración no se realiza ajuste de temperatura respecto al termómetro de resistencia de platino.

5.8.6 Recuento de la cuenta viable total

Antes de iniciar con la validación del proceso de esterilización es necesario conocer la cuenta viable total de los indicadores biológicos con esporas de *Geobacillus stearothermophilus*.

Para el recuento se lleva a cabo lo siguiente (Secretaria de Salud, 2011):

- Se retiraran 3 muestras del indicador biológico de sus contenedores individuales originales.
- Se colocan las muestras en un matraz volumétrico.
- Se disgrega el papel hasta reducirlo a fibras en 100 ml de solución reguladora pH 7.2 con agitación constante hasta obtener una suspensión homogénea.
- Se transfieren dos alícuotas de 10 ml de la suspensión a tubos estériles de 16mm x 125mm.
- A partir de cada preparación se procede a realizar una serie de diluciones:

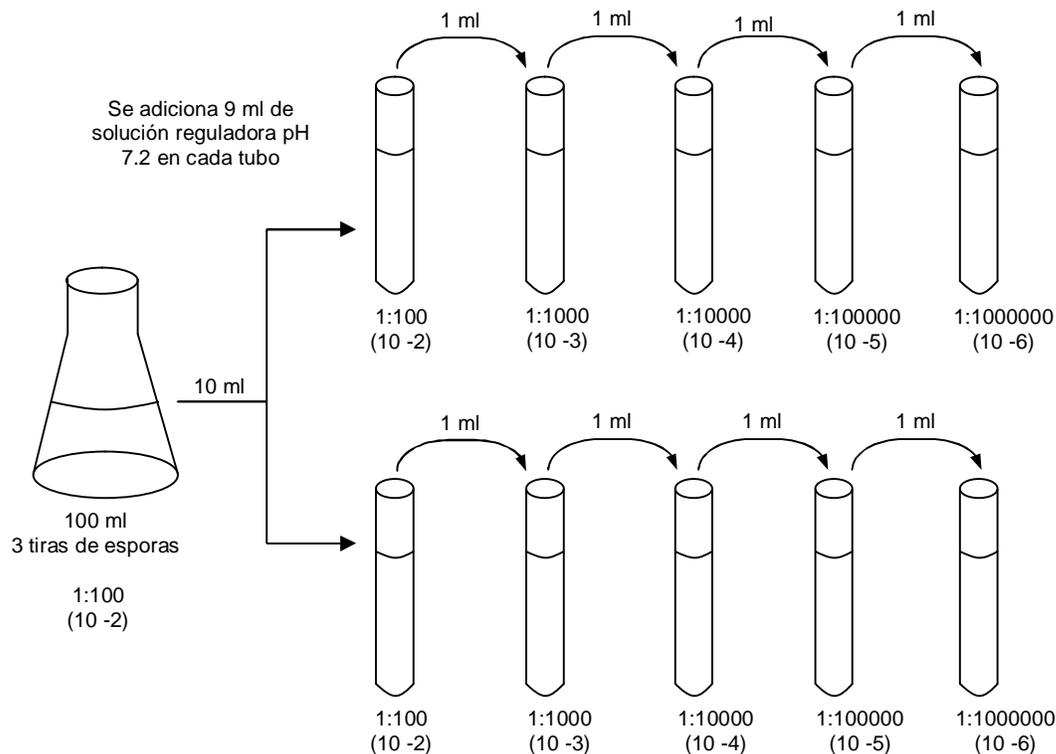


Ilustración 24. Diluciones para recuento de esporas viables

- Se toma 1.0 ml de cada dilución en una caja de Petri, se adiciona 25 ml de agar soya tripticaseína. Se debe tener 2 cajas de Petri por cada dilución.
- Se homogeniza cuidadosamente para obtener una suspensión homogénea con seis movimientos de derecha a izquierda, seis movimientos en el sentido de las manecillas del reloj, seis movimientos en el sentido contrario al de las manecillas del reloj y seis de atrás para adelante, sobre una superficie lisa y nivelada (Secretaria de Salud, 1995). Se deja solidificar y se incuban las placas a 55 °C, se revisan las placas a las 24 horas y 48 horas
- Se incluye una caja control con agar para verificar la esterilidad.
- Después del periodo especificado para la incubación, contar las colonias, seleccionar las placas que contengan entre 30 y 300 colonias.

5.8.7 Determinación del valor requerido de F_0 del proceso

Los indicadores biológicos a utilizar tienen una población de 2.4×10^6 esporas por contenedor, el valor D es de 1.9 minutos y el SAL deseado es 10^{-6} , es decir, la garantía de que no más de 1 unidad en 1 millón de unidades estarán no estériles, de acuerdo a la Ecuación 3:

$$F_0 = D_{121,1}(\log_{10} A - \log_{10} B)$$

$$F_0 = 1.9(6 - 6.38)$$

$$F_0 = 23.5 \text{ minutos}$$

Por lo tanto, para lograr la destrucción de 2.4×10^6 esporas, todas las unidades del material sometido al proceso de esterilización deben recibir al menos 23,5 F_0 , es decir, el equivalente de 23,5 minutos a 121,1 °C.

5.8.8 Estudio de penetración de calor

Para la Validación del proceso de esterilización se realiza un estudio de penetración de temperatura con los patrones de carga para demostrar que el equipo tiene la capacidad de funcionamiento con condiciones controlables para reproducir el proceso de esterilización del patrón de carga así como determinar el perfil de uniformidad temperatura, identificando zonas frías o calientes de los materiales que conforman el patrón de carga.

Para ejecutar el estudio se diseñó un protocolo en el cual se describen las pruebas, así como la metodología a seguir.

Las pruebas a realizar son:

- Número de termopares
- Descripción de los patrones de carga
- Parámetros de operación
- Calibración del equipo de medición
- Ubicación de los sensores e indicadores biológicos
- Verificación de calibración de instrumentos de medición
- Monitoreo de temperatura
- Control químico
- Control biológico
- Cálculo de letalidad
- Verificación de la calibración del equipo de medición

5.8.8.1 Número de termopares

Se formuló la siguiente propuesta del número de sensores para el estudio de penetración de calor considerando la capacidad de la cámara en m^3 , monitoreo de los materiales del patrón de carga, monitoreo de distribución de temperatura del ambiente saturado de vapor y número máximo de termopares.

Capacidad de la cámara del equipo	Número de termopares junto al sensor del sistema de control	Número de termopares de distribución de temperatura	Número de termopares de penetración de temperatura
0 a 1 m ³	1	7	12
1 a 2 m³	1	9	18
Mayores a 2 m ³	1	11	24

Tabla 9. Número de termopares para monitoreo de penetración de temperatura

La capacidad máxima de la cámara del equipo es de 1.3 m³ por lo cual se utiliza 1 termopar junto al sensor del sistema de control, 9 termopares de distribución de temperatura y 18 termopares de penetración de temperatura.

5.8.8.2 Descripción de los patrones de carga

a) 14 Uniformes para área aséptica

- Overol
- Zapatones
- Escafandra
- Bolsa contenedora del uniforme
- Cofia
- Cubre bocas

b) Equipo de llenado

- Jeringa de acero inoxidable
- Aguja de acero inoxidable
- Estopero de acero inoxidable
- Recipiente de acero inoxidable de 4 litros
- Recipiente de acero inoxidable de 8 litros
- 2 conexiones clamp de acero inoxidable
- 2 mallas de acero inoxidable
- 2 pinzas de disección de acero inoxidable
- 20,000 tapones de nitrilo de 13 mm
- 20,000 casquillos de acero inoxidable de 13 mm
- 1 probeta de 20 ml de polietileno
- 2 lienzos libres de partículas
- 1 filtro de 0.22 micras
- 1 filtro pirinola
- 2 mangueras de silicón de 10 mm
- 1 manguera de silicón tramada de 25 mm
- 5 uniformes para área aséptica

Los uniformes están manufacturados con tela de poliéster 99 %, posee propiedades antiestáticas, termoestables y son permeables al vapor.

5.8.8.3 Empaquetado de la carga

Los materiales del patrón de carga se cubren con una barrera externa que lleva impreso un indicador químico.

Las barreras nos permiten mantener los productos estériles mientras se transporta a la unidad de fabricación.

La barrera seleccionada consta de papel y bolsas de papel grado médico manufacturado con base de celulosa, posee alta resistencia mecánica, permeable al vapor, repelente a fluidos y mínimo desprendimiento de partículas.

5.8.8.4 Parámetros de operación

Se toma como referencia el valor requerido de F_0 del proceso, dando un margen de seguridad al equipo de llenado por la diversidad de materiales que posee la carga.

Parámetro de operación	Valor programado
Temperatura	121 °C
Tiempo de exposición	25 minutos
Pulsos de vacío	3
Nivel de vacío	-0.76 bar
Presión de vapor para pulsos de vacío	0.9 bar

Tabla 10. Parámetros de operación para estudio de penetración de temperatura del ciclo de uniformes

Parámetro de operación	Valor programado
Temperatura	121 °C
Tiempo de exposición	40 minutos
Pulsos de vacío	3
Nivel de vacío	-0.76 bar
Presión de vapor para pulsos de vacío	0.9 bar

Tabla 11. Parámetros de operación para estudio de penetración de temperatura del ciclo de equipo de llenado

5.8.8.5 Calibración del equipo de medición

Se sigue el procedimiento de calibración de la sección 5.8.5.3. para los 28 termopares utilizados en el monitoreo de penetración de temperatura

5.8.8.6 Ubicación de termopares e indicadores biológicos de uniformes

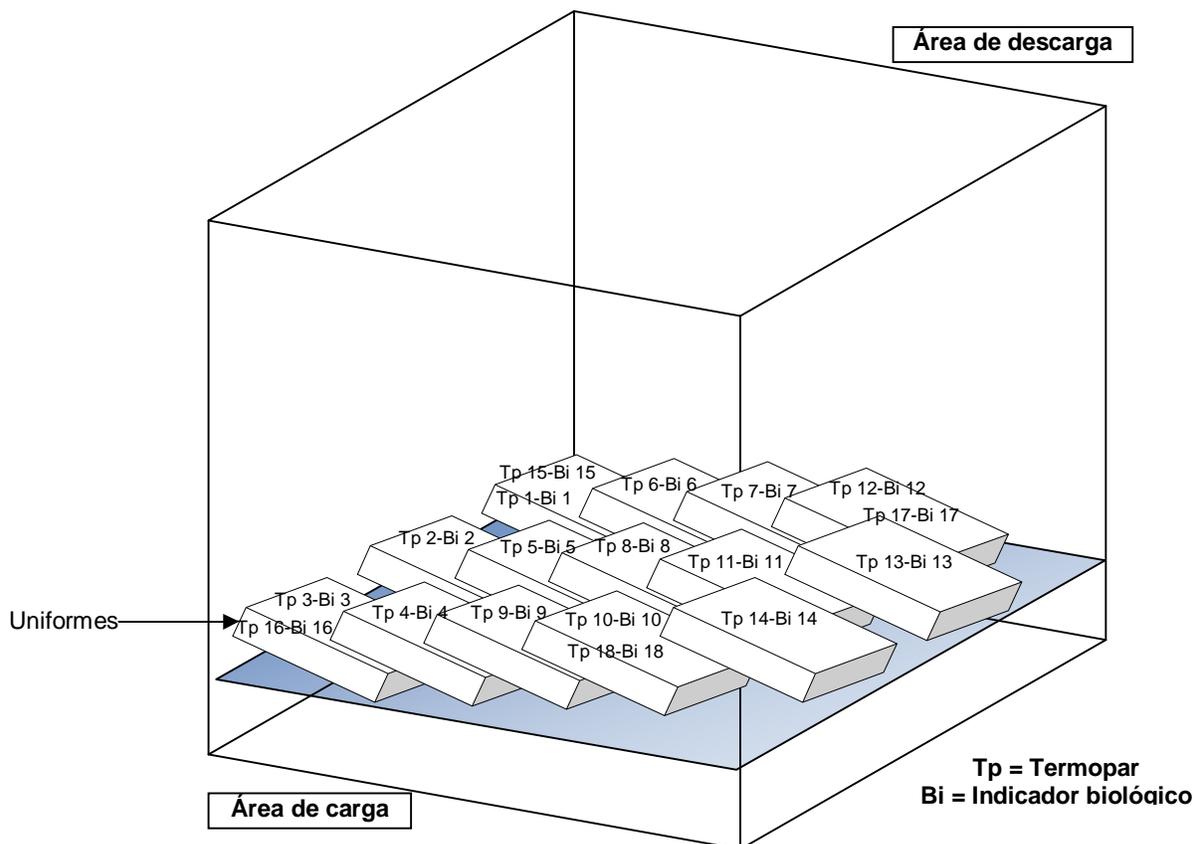
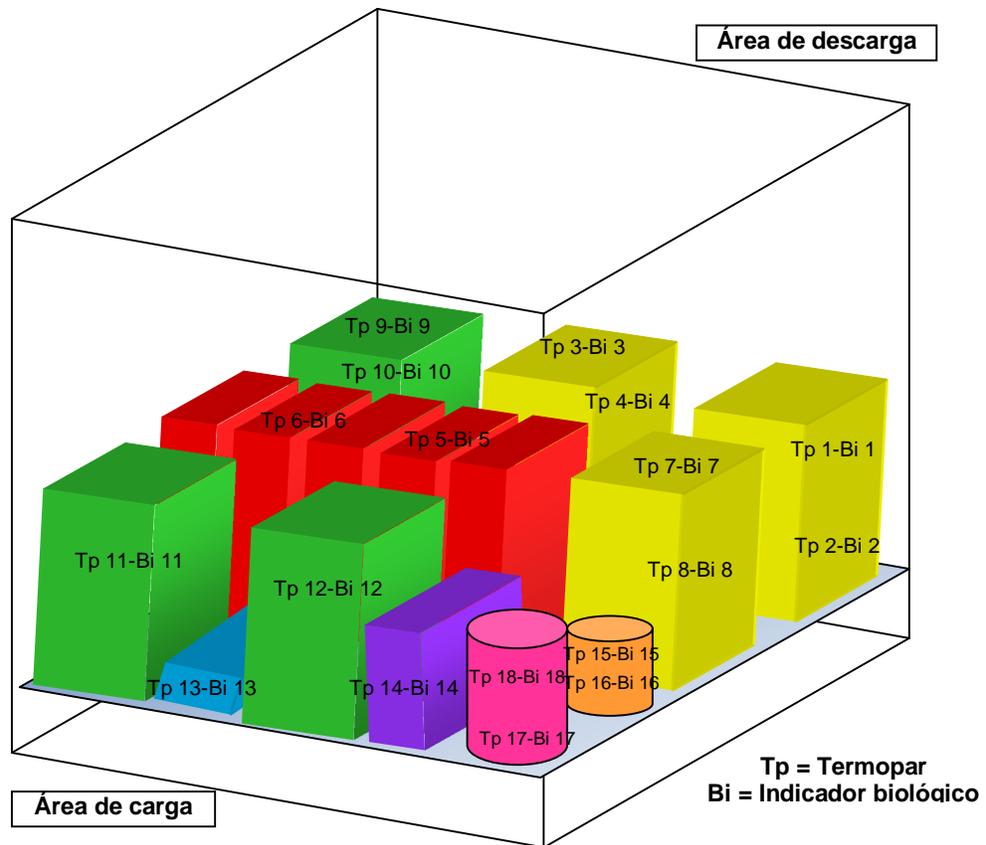


Ilustración 25. Ubicación de termopares e indicadores biológicos de uniformes para área aséptica

Los termopares se colocaron dentro de los zapatos por su composición en base a polímeros.

Se colocaron 2 termopares en los uniformes que se localizan en la zona más alejada del suministro de vapor así como en los uniformes equidistantes a estos, para estos uniformes se colocó un termopar dentro de los zapatos y un termopar dentro del uniforme.

5.8.8.7 Ubicación de termopares e indicadores biológicos del equipo de llenado



- | | |
|---|--|
| <ul style="list-style-type: none"> 20,000 casquillos de acero inoxidable de 13 mm 20,000 tapones de nitrilo de 13mm 5 uniformes para área aséptica 2 mallas de acero inoxidable Estopero de acero inoxidable Recipiente de acero inoxidable de 8 litros <ul style="list-style-type: none"> • 2 conexiones clamp de acero inoxidable • 1 filtro de 0.22 micras • 1 manguera de silicón tramada de 25mm • 1 filtro pirinola • Accesorios de estopero • 2 pinzas de disección de acero inoxidable | <ul style="list-style-type: none"> Recipiente de acero inoxidable de 4 litros <ul style="list-style-type: none"> • Jeringa de acero inoxidable • Aguja de acero inoxidable • 1 probeta de 20 ml de polietileno • 2 lienzos libres de partículas • 2 mangueras de silicón de 10mm |
|---|--|

Ilustración 26. Ubicación de termopares e indicadores biológicos del equipo de llenado

Cuando los materiales que integran la carga son de diferente composición, el punto frío se relaciona con un objeto en específico, por lo tanto es importante colocar termopares en cada tipo de componente de la carga.

En base a lo anterior se colocaron termopares en cada tipo de componente de la carga, incluyendo el centro geométrico y esquinas, procurando una distribución homogénea. Se colocaron 2 termopares en los materiales que contienen composición en base a polímeros.

5.8.8.8 Ubicación de termopares de distribución de temperatura

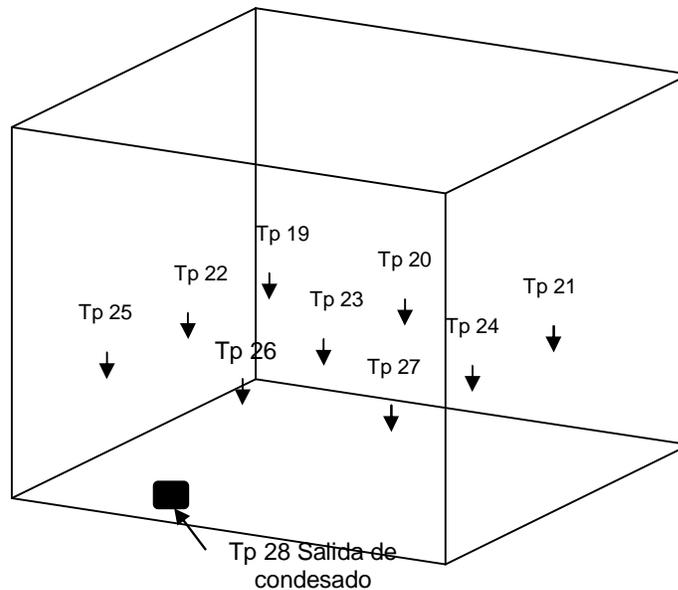


Ilustración 27. Ubicación de termopares de distribución de temperatura (Validación de proceso)

5.8.8.9 Ubicación de termopares e indicadores biológicos

La distribución de los termopares se realizó de acuerdo a lo siguiente:

- Termopar N° 18 adyacente al sensor de temperatura PT100 de control de temperatura de la cámara del autoclave. El sensor se ubica en la salida de condensados de la cámara del autoclave la cual es una zona de baja temperatura en la cámara.
- Los termopares del 1 al 14 se distribuyeron homogéneamente dentro del patrón de carga, se colocó un indicador biológico adyacente a cada termopar identificados con la misma numeración.

Durante la inserción del indicador se tomó la precaución de no cambiar la forma física del patrón de carga.

5.8.8.10 Control del equipo

Antes de iniciar con el estudio es necesario asegurar que las lecturas de los instrumentos críticos de medición y control del autoclave son confiables.

Se debe revisar que la siguiente instrumentación se encuentre calibrada y con dictamen aprobado:

- Manovacuómetro análogo tipo bourdon de presión de la cámara del equipo, alcance de medición de -1 a 3 bar,
- Sensor de temperatura PT100 con vaina $\varnothing 8 \times 82$ mm acero inoxidable 316 miniclamp para control de temperatura de la cámara del equipo.
- Válvula de seguridad de la cámara del equipo de acero inoxidable 316 conexión clamp $\varnothing 1\frac{1}{2}$ “.
- Válvula de seguridad de la chaqueta del equipo de bronce conexión BSP $\varnothing 1$ ”

5.8.8.11 Monitoreo de temperatura

Se procede al registro del perfil de temperatura con los parámetros de operación que se muestran en la Tabla 10 y Tabla 11 respectivamente.

5.8.8.12 Control químico

El papel grado médico para empaquetado de los materiales del patrón de carga lleva impreso un indicador químico que vira de color naranja a color marrón, así mismo se utiliza cinta testigo como adhesivo, posee un indicador químico con vire de color blanco a negro, el cambio de color indica que los materiales han sido expuestos al proceso de esterilización.

5.8.8.13 Control biológico

El indicador biológico auto-contenido con población de 10^6 esporas de *Geobacillus stearothermophilus*.

Finalizado el proceso de esterilización los indicadores biológicos se incuban de 55 a 60 °C, transcurrido 24 horas no se debe observar crecimiento en el medio de cultivo.

Se utiliza un indicador biológico por cada termopar utilizador para el monitoreo de temperatura de penetración.

5.8.8.14 Cálculo de letalidad

Se calcula la letalidad durante el ciclo de esterilización para caracterizar la capacidad del proceso con la Ecuación 4:

$$F_0 = \sum_{T=1}^X Ldt$$

5.8.8.15 Verificación de la calibración del equipo de medición

Después de que el monitoreo de temperatura se ha completado, se debe realizar la verificación de calibración para confirmar que sus lecturas de los termopares están dentro de los criterios de calibración especificados.

El procedimiento para verificar la calibración y los criterios de aceptación son los mismos de la sección 5.8.5.3. Calibración del equipo de medición, sin embargo durante la verificación de la calibración no se realiza ajuste de temperatura respecto al termómetro de resistencia de platino.

5.8.8.16 Análisis estadístico

Para el análisis estadístico se utilizaron medidas de tendencia central como media para observar el centro de la distribución de datos, medidas de dispersión como desviación estándar, coeficiente de variación y gráfico de rangos para obtener información de las fluctuaciones del proceso.

Finalmente se realizó una comparación múltiple de medias, por el método de la diferencia mínima significativa sugerida por Fisher (Vallejo, 2011) basada en la construcción de intervalos de distribución que reflejan la oscilación de temperatura en cada punto de monitoreo.

CAPÍTULO 6. RESULTADOS

En el presente capítulo se plasman los resultados de los datos obtenidos de cada elemento estudiado.

6.1 Estudio de distribución en cámara vacía

6.1.1 Resultados de calibración de termopares

	Calibración a 60 °C		Calibración a 140 °C		Calibración a 100 °C	
Lectura del patrón	60.001 °C		139.959 °C		99.957 °C	
Termopar N°	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error
Tp 1	60.0	0.00	140.0	0.07	100.0	0.04
Tp 2	60.1	0.10	140.0	0.04	100.0	0.06
Tp 3	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 4	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 5	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 6	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 7	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 8	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 9	60.0	0.00	140.0	0.07	100.0	0.04
Tp 10	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 11	60.0	0.00	140.0	0.06	100.0	0.04
Tp 12	60.1	0.05	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 13	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 14	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 15	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 16	60.0	0.00	140.0	0.07	100.0	0.04
Tp 17	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Tp 18	60.0	0.00	140.0	0.04	100.0	0.04
Incertidumbre media	0.033 °C		0.037 °C		0.032 °C	

Las lecturas son resultado del promedio de 6 mediciones.
 Condiciones ambientales de la medición: temperatura: 24.2 °C, humedad: 35 % HR.
 Incertidumbre del patrón: ± 0.020 °C
 Incertidumbre del bloque de temperatura: 0.03°C
 División mínima del patrón: 0.001°C
 Criterio de desviación de termopares: 0.5 °C

Tabla 12. Calibración de termopares del estudio de distribución en cámara vacía

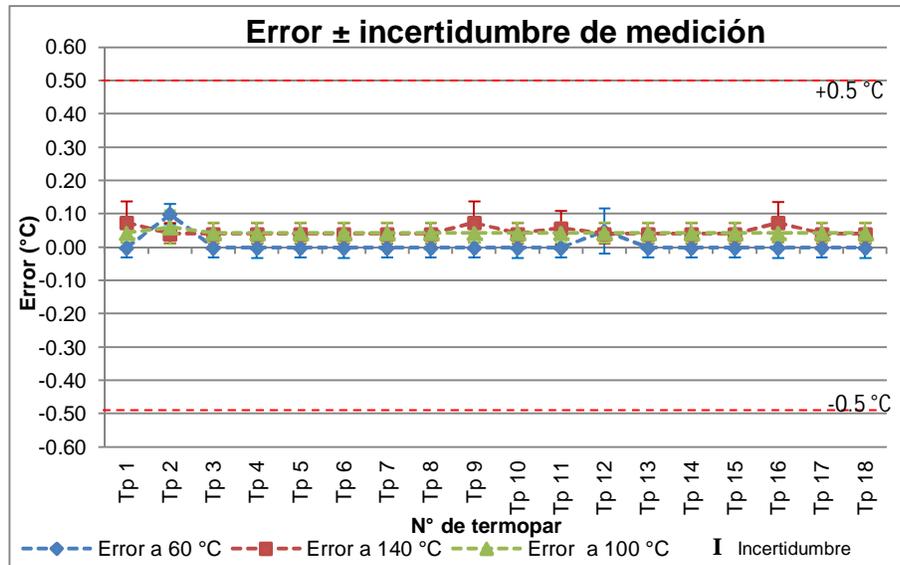


Ilustración 28. Error \pm incertidumbre de medición del estudio de distribución en cámara vacía

6.1.2 Control del equipo

Los instrumentos de medición y control del autoclave se encuentran calibrados con dictamen aprobado, asegurando lecturas confiables.

6.1.3 Monitoreo de temperatura

Se realizó la representación gráfica de los datos obtenidos del monitoreo en cámara vacía del autoclave, registrando temperaturas cada 30 segundos. El ciclo tuvo una duración total de 30 minutos.

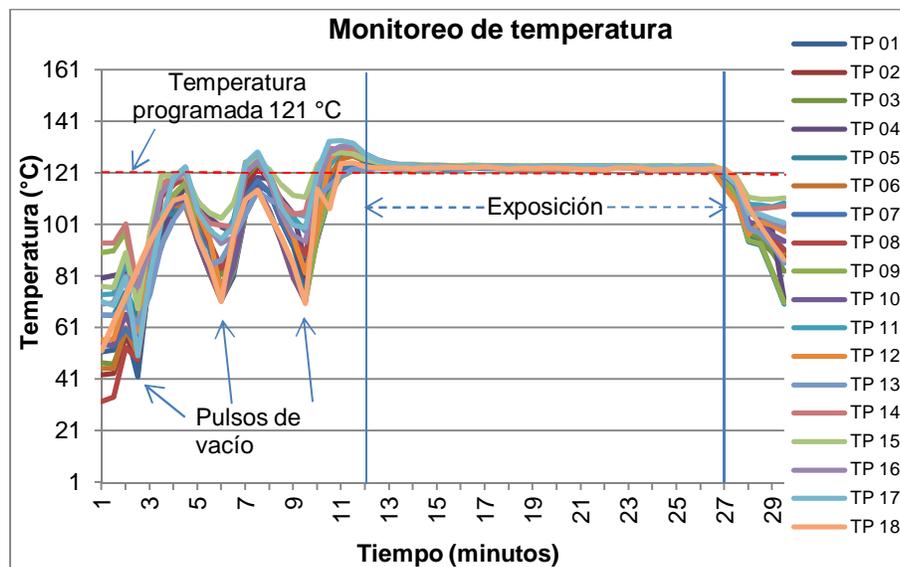


Ilustración 29. Monitoreo de temperatura del estudio de distribución en cámara vacía

6.1.4 Análisis estadístico

Termopar N°	Media
Tp 1	123.0
Tp 2	123.3
Tp 3	123.2
Tp 4	123.5
Tp 5	122.8
Tp 6	123.4
Tp 7	123.2
Tp 8	123.6
Tp 9	123.2
Tp 10	123.6
Tp 11	124.0
Tp 12	123.3
Tp 13	122.9
Tp 14	123.9
Tp 15	124.2
Tp 16	124.0
Tp 17	123.9
Tp 18	122.9
Media termopares de distribución de temperatura	123.46 °C
Desviación estándar	0.76 °C
Coefficiente de variación	0.62 %
Intervalo de distribución	0.33 °C

Tabla 13. Resumen estadístico del estudio de distribución en cámara vacía

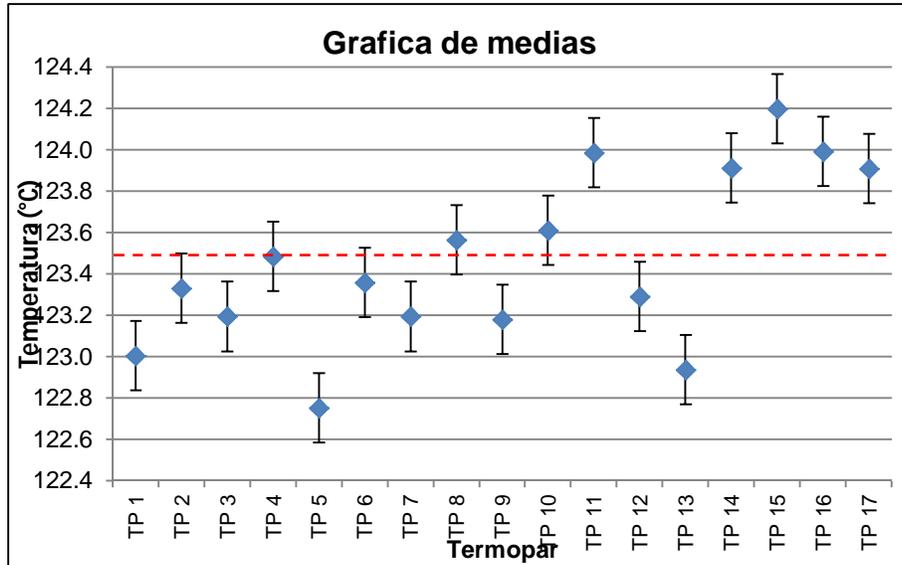


Ilustración 30. Grafica de medias de termopares del estudio de distribución en cámara vacía

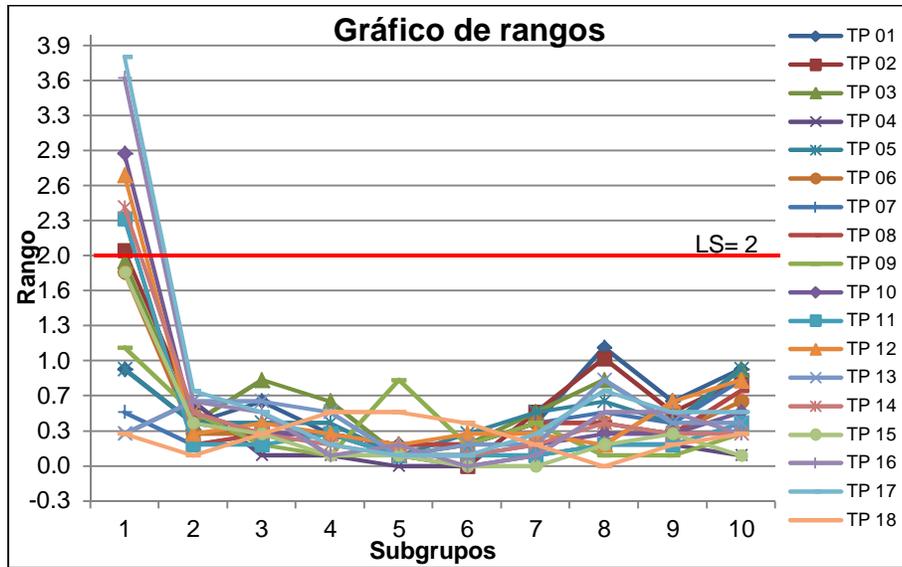


Ilustración 31. Gráfico de rangos.

6.1.5 Verificación de la calibración de termopares

	Calibración a 60 °C		Calibración a 140 °C		Calibración a 100 °C	
Lectura del patrón	60.012 °C		139.904 °C		99.919 °C	
Termopar N°	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error
Tp 1	60.1	0.09	139.9	0.00	99.9	0.00
Tp 2	60.1	0.11	139.9	0.00	100.0	0.08
Tp 3	60.0	0.02	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 4	60.0	0.01	140.0	0.10	100.0	0.05
Tp 5	60.0	0.02	140.0	0.10	100.0	0.08
Tp 6	60.0	-0.01	140.0	0.10	100.0	0.08
Tp 7	60.1	0.06	140.0	0.11	100.1	0.13
Tp 8	60.1	0.04	140.0	0.10	100.0	0.08
Tp 9	60.1	0.06	140.1	0.15	100.0	0.08
Tp 10	60.1	0.09	140.1	0.20	100.0	0.10
Tp 11	60.1	0.09	140.1	0.23	100.1	0.18
Tp 12	60.2	0.16	139.9	0.00	100.0	0.08
Tp 13	60.2	0.16	140.1	0.20	100.0	0.10
Tp 14	60.1	0.06	140.1	0.20	100.0	0.08
Tp 15	60.0	0.01	140.1	0.20	100.0	0.08
Tp 16	60.0	0.02	140.1	0.20	100.1	0.15
Tp 17	60.0	0.01	140.0	0.10	100.0	0.08
Tp 18	60.0	-0.01	140.1	0.20	100.0	0.08
Incertidumbre media	0.051 °C		0.036 °C		0.039 °C	

Las lecturas son resultado del promedio de 6 mediciones.
 Condiciones ambientales de la medición: temperatura: 23.8 °C, humedad: 43 % HR.
 Criterio de desviación de termopares: 0.5 °C

Tabla 14. Verificación de la calibración de termopares del estudio de distribución en cámara vacía

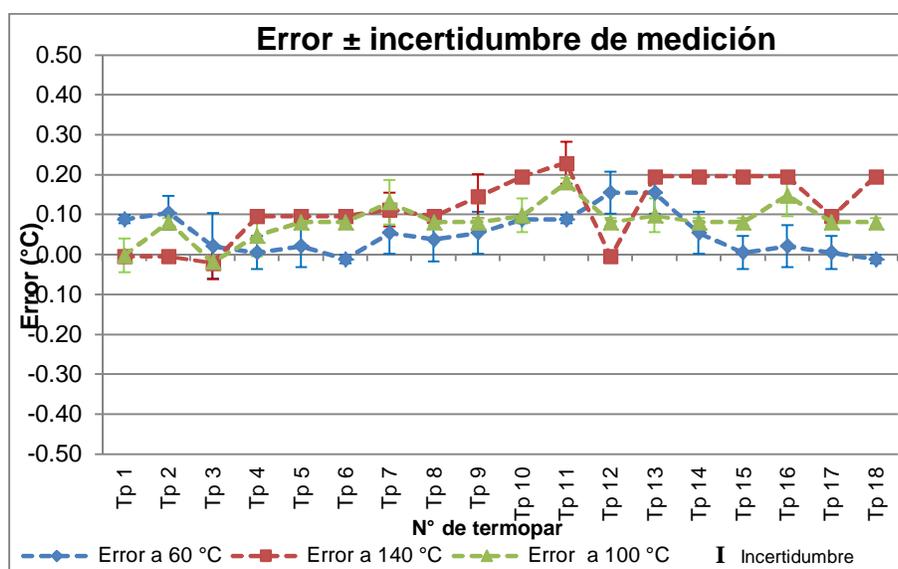


Ilustración 32. Error ± incertidumbre de medición de la verificación del estudio de distribución en cámara vacía

6.1.6 Recuento de esporas viables

Población de esporas por tira declara por el fabricante: 2.5×10^6 (ver anexo 1).

Dilución	Preparación 1		Preparación 2		Promedio (3 tiras)	Cálculo 1 tira
10^{-2}	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	No aplica	No aplica
10^{-3}	Incontable	Incontable	Incontable	Incontable	No aplica	No aplica
10^{-4}	928	851	768	832	845	282
10^{-5}	90	83	76	81	83	28
10^{-6}	9	7	6	8	8	3

Tabla 15. Cálculo de esporas viables de indicadores biológicos

El número de esporas se reporta de la dilución 10^{-5} donde se obtuvo una cantidad promedio de 282 UFC en 3 tiras.

Dividiendo ese valor en las 3 tiras y multiplicarlo por el factor de dilución (100000) obtenemos 2.8×10^6 esporas por tira con un porcentaje de recuperación de 112 % respecto al certificado emitido por el fabricante.

6.2 Estudio de penetración de calor para la validación del patrón de carga de uniformes

6.2.1 Resultados de calibración de termopares

Lectura del patrón	Calibración a 60 °C		Calibración a 140 °C		Calibración a 100 °C	
	60.003 °C		139.893 °C		99.909 °C	
Termopar N°	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error
Tp 1	60.0	0.00	139.9	-0.01	99.9	0.00
Tp 2	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.02
Tp 3	60.0	-0.01	139.9	0.00	99.9	0.02
Tp 4	60.0	0.00	139.9	0.00	100.0	0.04
Tp 5	60.0	0.01	139.9	0.01	100.0	0.05
Tp 6	60.0	0.00	139.9	0.01	100.0	0.07
Tp 7	60.0	0.00	139.9	0.01	100.0	0.05
Tp 8	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.03
Tp 9	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.03
Tp 10	60.0	-0.02	139.9	0.00	99.9	0.00
Tp 11	60.0	-0.01	139.9	0.01	99.9	-0.01
Tp 12	60.0	-0.02	139.9	0.01	99.9	-0.02
Tp 13	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.00
Tp 14	60.0	-0.01	139.9	0.01	99.9	0.02
Tp 15	60.0	0.00	139.9	0.01	99.9	0.03
Tp 16	60.0	0.00	139.9	0.01	99.9	0.04
Tp 17	60.0	0.00	139.9	0.00	100.0	0.05
Tp 18	60.0	0.00	139.9	0.00	100.0	0.08
Tp 19	60.0	0.00	139.9	0.00	100.0	0.05
Tp 20	60.0	-0.01	139.9	0.00	99.9	0.02
Tp 21	60.0	-0.02	139.9	0.00	99.9	0.01
Tp 22	60.0	-0.01	139.9	0.00	99.9	0.01
Tp 23	60.0	-0.01	139.9	0.00	99.9	0.00
Tp 24	60.0	-0.01	139.9	0.01	99.9	-0.01
Tp 25	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.00
Tp 26	60.0	0.00	139.9	-0.01	99.9	0.00
Tp 27	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.01
Tp 28	60.0	0.00	139.9	0.00	99.9	0.03
Incertidumbre media	0.031 °C		0.031 °C		0.031 °C	

Las lecturas son resultado del promedio de 6 mediciones.

Condiciones ambientales de la medición: temperatura: 23.2 °C, humedad: 45 % HR.

Incertidumbre del patrón: ± 0.020 °C

Incertidumbre del bloque de temperatura: 0.03°C

División mínima del patrón: 0.001°C

Criterio de desviación de termopares: 0.5 °C

Tabla 16. Calibración del equipo de medición de uniformes

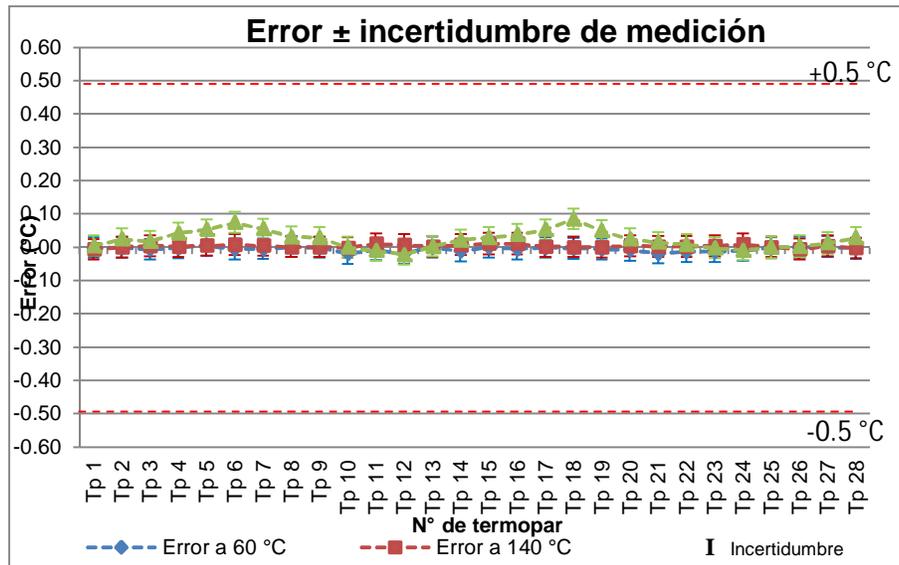


Ilustración 33. Calibración del equipo de medición de uniformes

6.2.2 Control del equipo

Los instrumentos de medición y control del autoclave se encuentran calibrados con dictamen aprobado, asegurando lecturas confiables.

6.2.3 Monitoreo de temperatura

Se realizó la representación gráfica de los datos obtenidos de los termopares de distribución como de los termopares de penetración de temperatura, registrando datos cada 30 segundos.

El análisis de datos estadísticos abarca la etapa de exposición con duración de 25 minutos, con 50 registros de temperatura por cada termopar.

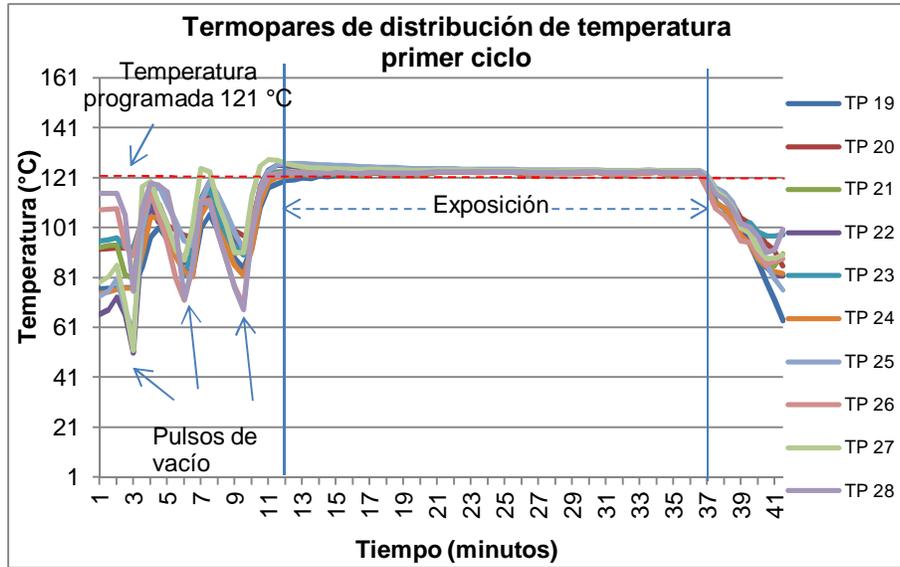


Ilustración 34. Termopares de distribución de temperatura primer ciclo de uniformes

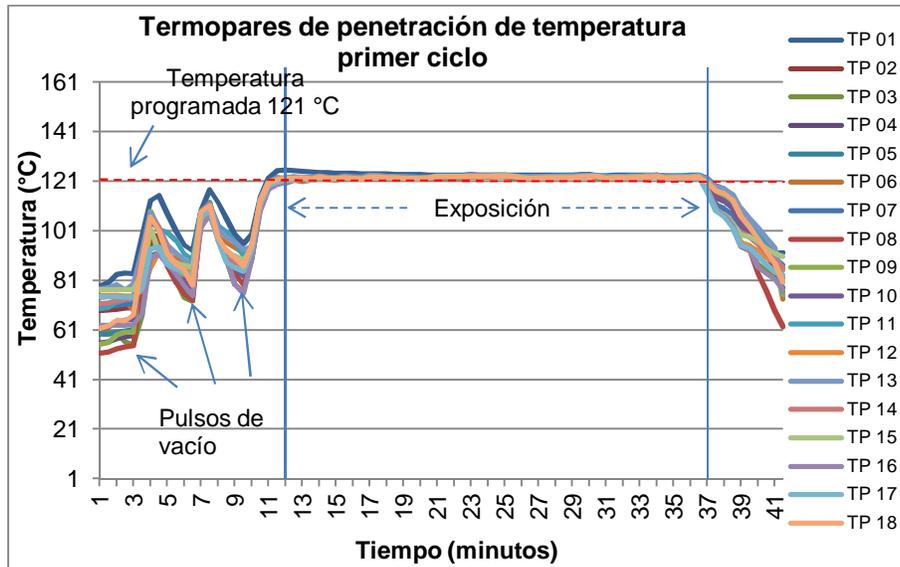


Ilustración 35. Termopares de penetración de temperatura primer ciclo de uniformes

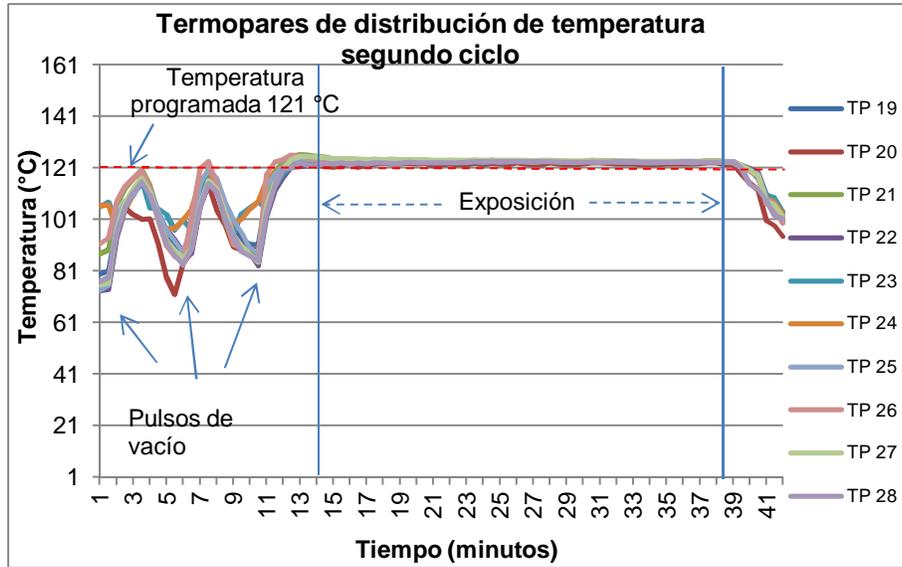


Ilustración 36. Termopares de distribución de temperatura segundo ciclo de uniformes

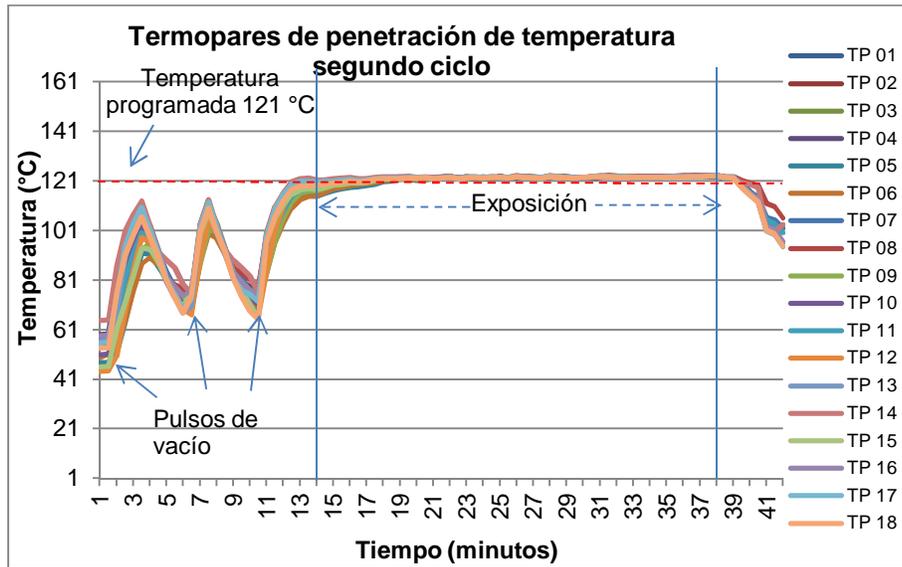


Ilustración 37. Termopares de penetración de temperatura segundo ciclo de uniformes

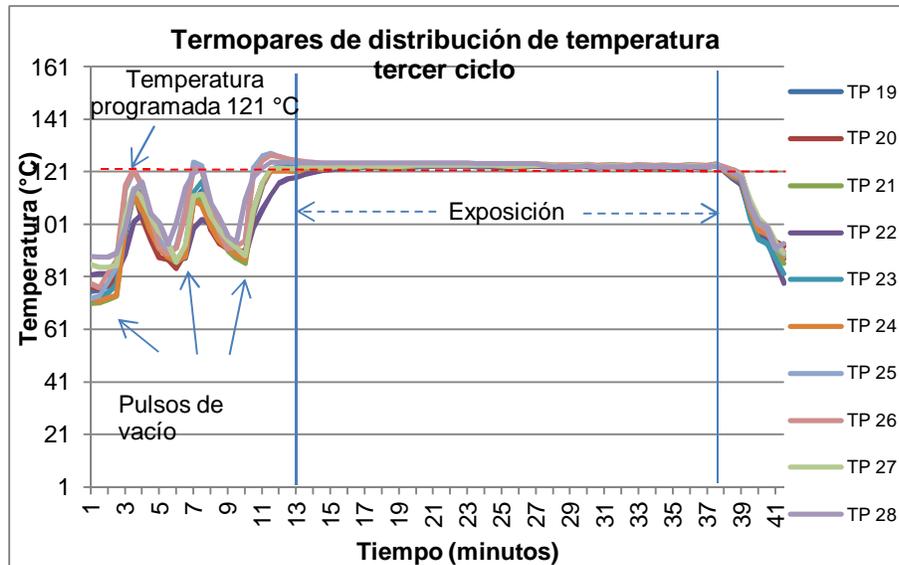


Ilustración 38. Termopares de distribución de temperatura tercer ciclo de uniformes

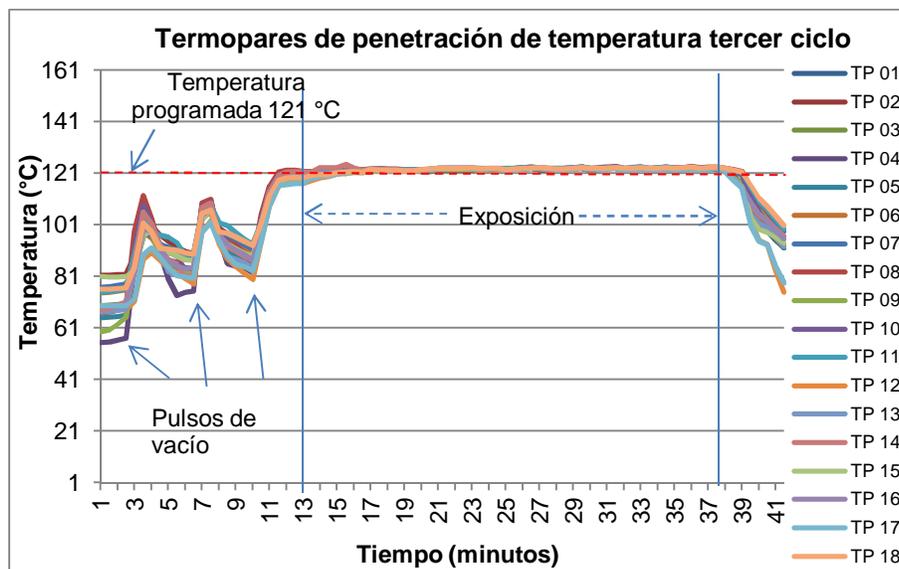


Ilustración 39. Termopares de penetración de temperatura tercer ciclo de uniformes

6.2.4 Control químico

El indicador químico que lleva impreso el papel grado médico para empaquetado de los materiales del patrón de carga viró de color naranja a color marrón; el indicador químico de la cinta testigo viró de color de blanco a negro, el cambio de color indica que los materiales han sido expuestos al proceso de esterilización.

6.2.5 Control biológico

Se utilizaron 18 indicadores biológicos por cada ciclo realizado.

Los indicadores biológicos después de exponerlos al proceso de esterilización e incubarlos no presentaron crecimiento, tras revisarlos a las 24 y 48 horas.

6.2.6 Cálculo de letalidad

Letalidad acumulada			
Termopar N°	Primer ciclo	Segundo ciclo	Tercer ciclo
Tp 01	40.1	32.2	32.1
Tp 02	32.7	32.4	32.5
Tp 03	32.2	33.5	32.1
Tp 04	34.1	33.3	32.6
Tp 05	33.2	29.8	33.6
Tp 06	32.5	30.3	31.9
Tp 07	33.3	32.7	33.4
Tp 08	32.7	34.0	36.4
Tp 09	34.2	31.2	33.2
Tp 10	33.5	32.2	34.8
Tp 11	35.9	31.8	35.3
Tp 12	32.9	31.5	31.5
Tp 13	35.4	33.4	33.2
Tp 14	33.0	35.3	34.6
Tp 15	32.3	31.2	31.8
Tp 16	31.6	33.1	32.5
Tp 17	31.7	33.3	31.7
Tp 18	33.3	31.8	34.5

Tabla 17. Letalidad acumulada de uniformes

Cálculo	
Media	33.1 min
Desviación estándar	1.7 min
Coefficiente de variación	5 %

Tabla 18. Resumen estadístico de letalidad de uniformes

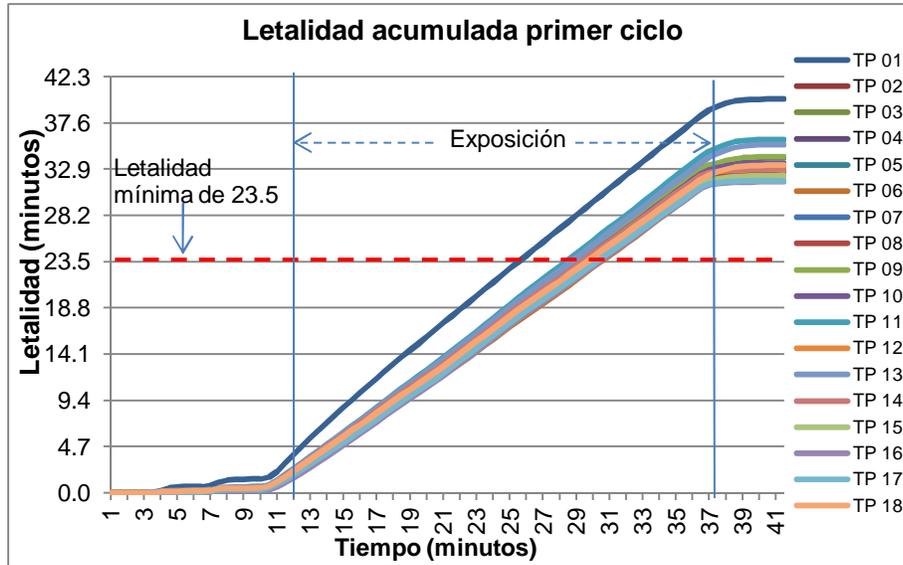


Ilustración 40. Gráfico de letalidad acumulada primer ciclo de uniformes

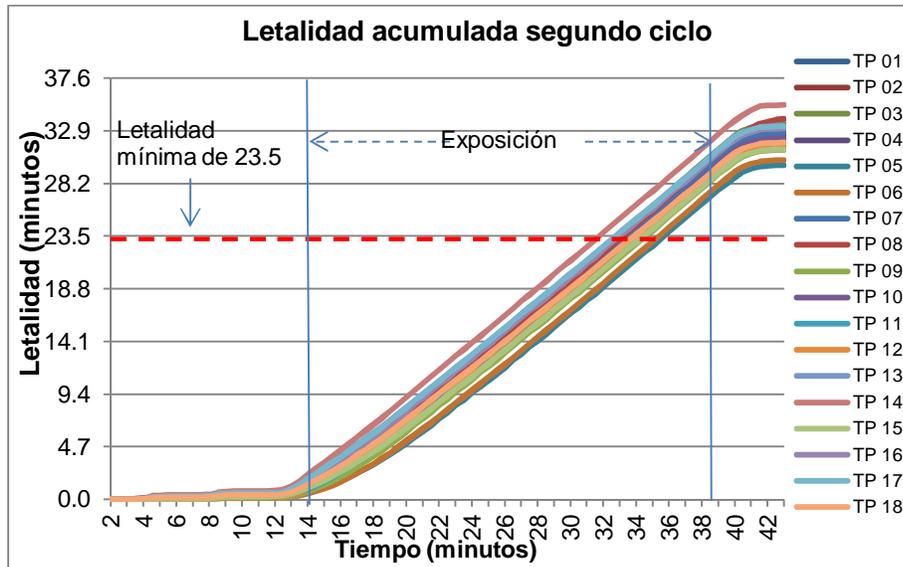


Ilustración 41. Gráfico de letalidad acumulada segundo ciclo de uniformes

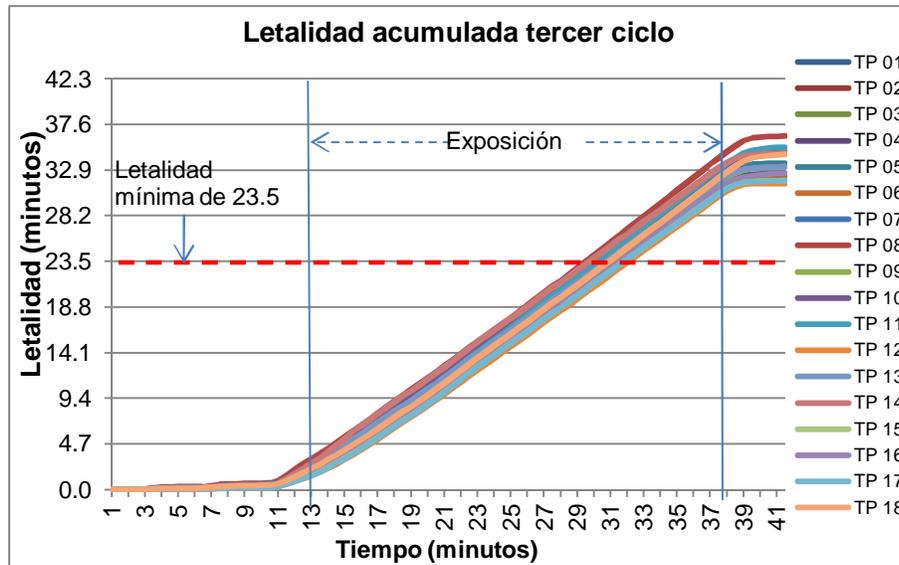


Ilustración 42. Gráfico de letalidad acumulada tercer ciclo de uniformes

6.2.7 Análisis estadístico

Termopar N°	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
Tp 19	122.5	123.3	123.8	
Tp 20	123.4	122.5	122.7	
Tp 21	123.1	123.8	123.1	
Tp 22	123.7	123.5	122.7	
Tp 23	123.3	123.4	123.0	
Tp 24	122.7	123.6	123.1	
Tp 25	124.8	123.4	123.5	
Tp 26	123.1	123.5	124.0	
Tp 27	124.2	124.0	123.3	
Tp 28	123.4	122.5	122.7	Total
Media	123.41 °C	123.42 °C	123.30 °C	123.38 °C
Desviación estándar	0.51 °C	0.48 °C	0.63 °C	--
Coefficiente de variación	0.42 %	0.39 %	0.51 %	--
Intervalo de distribución	0.19 °C	0.11 °C	0.18 °C	--

Tabla 19. Resumen estadístico de termopares de distribución de temperatura de uniformes

Termopar N°	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
Tp 01	123.8	122.1	122.2	
Tp 02	122.7	122.3	122.2	
Tp 03	122.6	122.5	122.2	
Tp 04	122.8	122.3	122.3	
Tp 05	122.6	121.6	122.5	
Tp 06	122.4	121.8	122.2	
Tp 07	122.8	122.4	122.6	
Tp 08	122.7	122.4	122.9	
Tp 09	122.9	122.1	122.4	
Tp 10	122.7	122.2	122.7	
Tp 11	123.1	122.2	122.8	
Tp 12	122.8	122.1	122.2	
Tp 13	123.0	122.4	122.5	
Tp 14	122.7	122.7	122.8	
Tp 15	122.6	122.0	122.2	
Tp 16	122.5	122.4	122.4	
Tp 17	122.5	122.4	122.3	
Tp 18	122.6	122.1	122.6	Total
Media	122.77 °C	122.23 °C	122.44 °C	122.48 °C
Desviación estándar	0.51 °C	1.03 °C	0.83 °C	--
Coeficiente de variación	0.42 %	0.84 %	0.68 %	--
Intervalo de distribución	0.16 °C	0.40 °C	0.32 °C	--

Tabla 20. Resumen estadístico de termopares de penetración de temperatura de uniformes

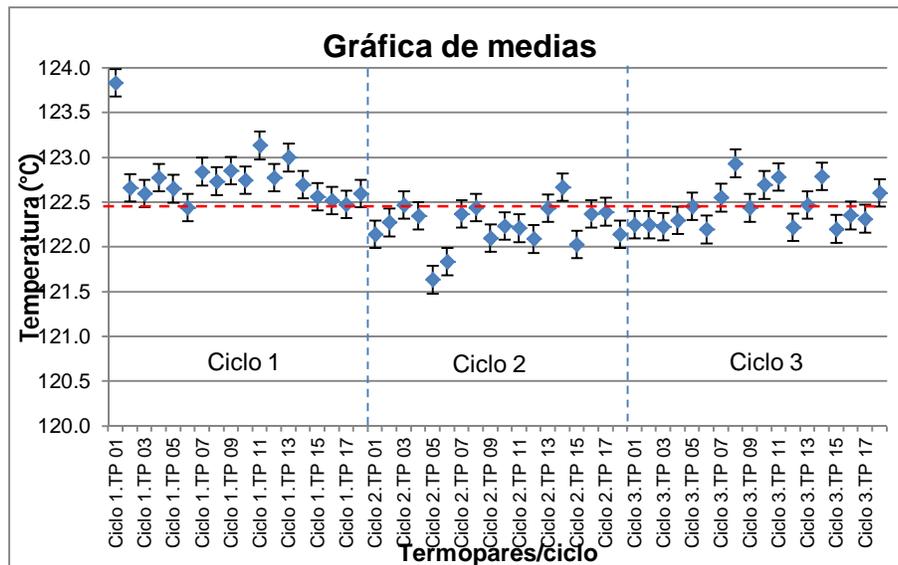


Ilustración 43. Grafica de medias de uniformes

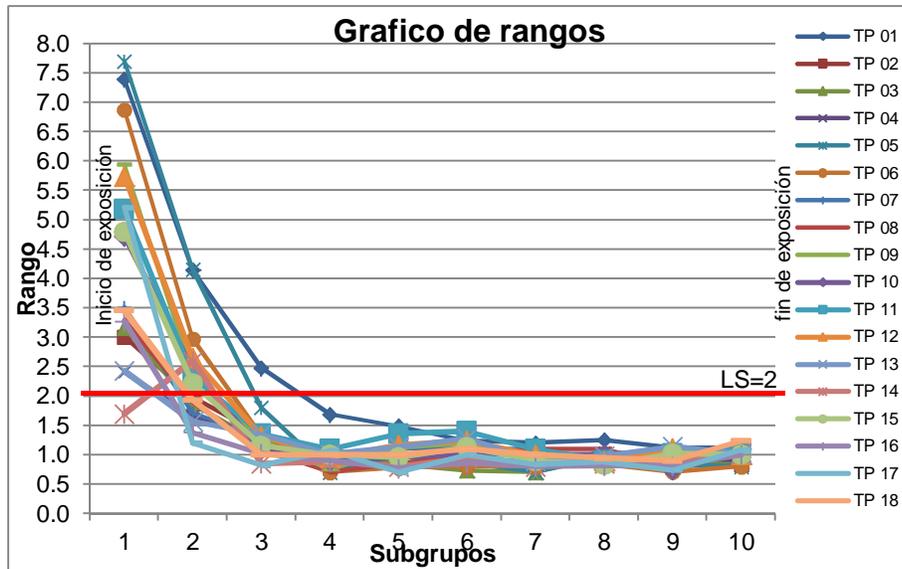


Ilustración 44. Grafico para carta de control de rangos de uniformes

6.2.8 Verificación de la calibración de termopares

	Calibración a 60 °C		Calibración a 140 °C		Calibración a 100 °C	
Lectura del patrón	60.013 °C		139.921 °C		99.925 °C	
Termopar N°	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error
Tp 1	60.1	0.04	140.0	0.07	100.0	0.05
Tp 2	60.0	0.01	139.9	0.01	99.9	0.02
Tp 3	60.0	0.01	139.9	0.02	99.9	0.01
Tp 4	60.0	0.02	140.0	0.03	100.0	0.03
Tp 5	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	0.01
Tp 6	60.0	0.02	140.0	0.04	100.0	0.06
Tp 7	60.1	0.09	140.0	0.11	100.1	0.14
Tp 8	60.2	0.17	140.1	0.13	100.1	0.16
Tp 9	60.1	0.13	140.2	0.25	100.1	0.21
Tp 10	60.1	0.05	139.9	0.03	100.0	0.05
Tp 11	60.0	0.02	140.0	0.06	100.0	0.05
Tp 12	60.0	0.00	140.0	0.11	100.0	0.06
Tp 13	60.0	0.00	139.9	0.02	99.9	0.01
Tp 14	60.0	-0.01	139.9	-0.05	99.9	-0.01
Tp 15	60.1	0.09	140.1	0.16	100.1	0.15
Tp 16	60.0	0.01	139.9	0.01	100.0	0.03
Tp 17	60.0	-0.04	139.8	-0.08	99.9	-0.03
Tp 18	59.9	-0.08	139.7	-0.18	99.8	-0.10
Tp 19	60.1	0.10	140.0	0.09	100.1	0.14
Tp 20	60.1	0.13	140.1	0.20	100.1	0.20
Tp 21	60.0	0.04	140.0	0.05	100.0	0.05
Tp 22	60.1	0.09	140.1	0.15	100.1	0.14
Tp 23	60.0	0.02	139.9	-0.04	99.9	-0.02
Tp 24	60.0	-0.06	139.8	-0.10	99.8	-0.09
Tp 25	60.1	0.05	139.9	0.01	100.0	0.04
Tp 26	60.1	0.09	140.0	0.10	100.0	0.11
Tp 27	60.2	0.14	140.1	0.17	100.1	0.18
Tp 28	60.1	0.05	139.9	-0.02	100.0	0.05
Incertidumbre media	0.032 °C		0.031 °C		0.031 °C	

Las lecturas son resultado del promedio de 6 mediciones.
 Condiciones ambientales de la medición: temperatura: 24.9 °C, humedad: 39 % HR.
 Criterio de desviación de termopares: ± 0.5 °C

Tabla 21. Verificación de la calibración del equipo de medición de uniformes

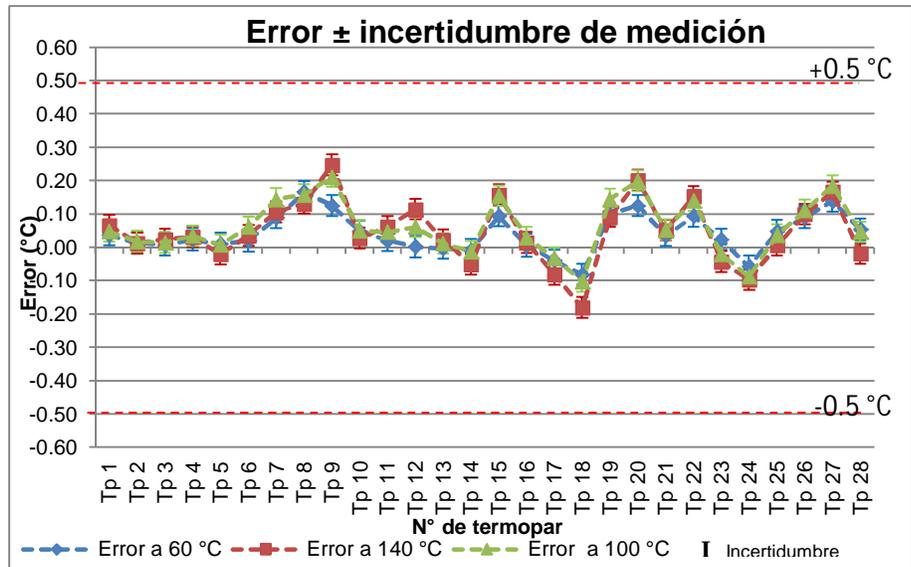


Ilustración 45. Verificación de calibración del equipo de medición de uniformes

6.3 Estudio de penetración de calor para la validación del patrón de carga de equipo de llenado

6.3.1 Resultados de calibración de termopares

Lectura del patrón	Calibración a 60 °C		Calibración a 140 °C		Calibración a 100 °C	
	59.990 °C		139.919 °C		99.919 °C	
Termopar N°	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error
Tp 1	60.0	0.01	139.9	-0.04	99.9	-0.02
Tp 2	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 3	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 4	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.08
Tp 5	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.08
Tp 6	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	0.01
Tp 7	60.0	0.01	139.9	-0.05	99.9	-0.02
Tp 8	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 9	60.0	0.03	139.9	-0.02	100.0	0.08
Tp 10	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.06
Tp 11	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 12	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 13	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 14	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 15	60.0	0.01	139.8	-0.12	99.9	-0.02
Tp 16	60.0	0.01	139.9	-0.04	99.9	-0.02
Tp 17	60.0	0.01	139.8	-0.09	99.9	-0.02
Tp 18	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.06
Tp 19	60.0	0.01	139.8	-0.12	99.9	-0.02
Tp 20	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.08
Tp 21	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 22	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.06
Tp 23	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 24	60.1	0.06	139.8	-0.10	99.9	0.00
Tp 25	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 26	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 27	60.0	0.01	139.9	-0.02	99.9	-0.02
Tp 28	60.0	0.01	139.9	-0.02	100.0	0.06
Incertidumbre media	0.032 °C		0.035 °C		0.035 °C	

Las lecturas son resultado del promedio de 6 mediciones.

Condiciones ambientales de la medición: temperatura: 24.5 °C, humedad: 25.7% HR.

Incertidumbre del patrón: ± 0.020 °C

División mínima del patrón: 0.001 °C

Incertidumbre del bloque de temperatura: 0.03 °C

Criterio de desviación de termopares: ± 0.5 °C

Criterio de desviación de termopares: 0.5 °C

Tabla 22. Calibración del equipo de medición de equipo de llenado

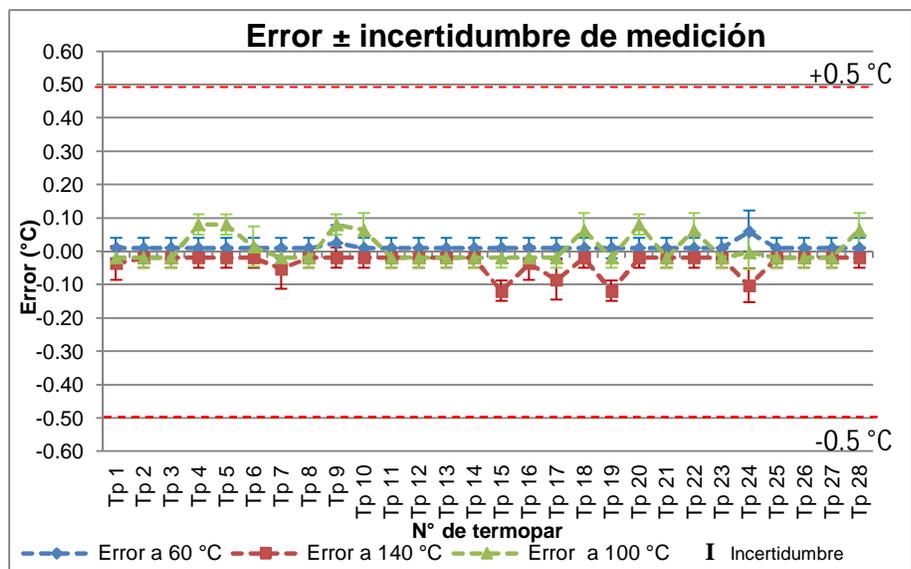


Ilustración 46. Calibración del equipo de medición de equipo de llenado

6.3.2 Control del equipo

Se revisó la siguiente instrumentación:

- Manovacuómetro análogo tipo bourdon de presión de la cámara del equipo, alcance de medición de -1 a 3 bar,
- Sensor de temperatura PT100 con vaina $\varnothing 8 \times 82 \text{ mm}$ acero inoxidable 316 miniclamp para control de temperatura de la cámara del equipo.
- Válvula de seguridad de la cámara del equipo de acero inoxidable 316 conexión clamp $\varnothing 1\frac{1}{2}$ “.
- Válvula de seguridad de la chaqueta del equipo de bronce conexión BSP $\varnothing 1$ ”

Los instrumentos de medición y control del autoclave se encuentran calibrados con dictamen aprobado, asegurando lecturas confiables.

6.3.3 Monitoreo de temperatura

Se realizó la representación gráfica de los datos obtenidos de los termopares de distribución como de los termopares de penetración de temperatura, registrando datos cada 30 segundos.

El análisis de datos estadísticos abarca la etapa de exposición con duración de 40 minutos, con 80 registros de temperatura por cada termopar.

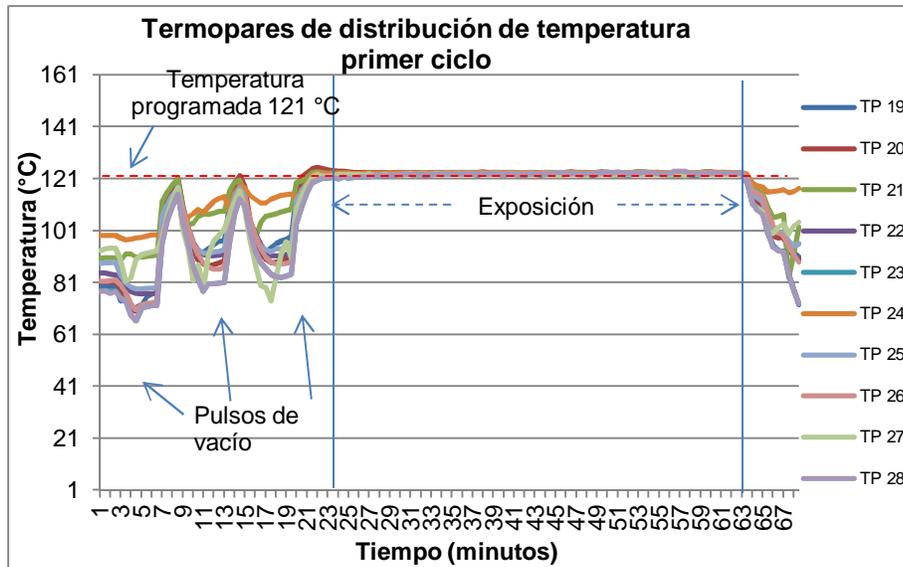


Ilustración 47. Termopares de distribución de temperatura primer ciclo de equipo de llenado

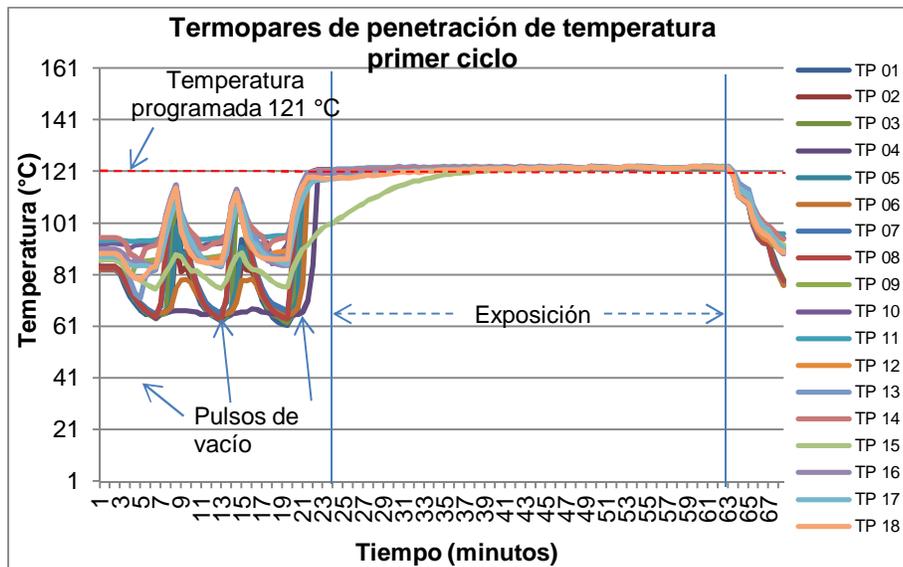


Ilustración 48. Termopares de penetración de temperatura primer ciclo de equipo de llenado

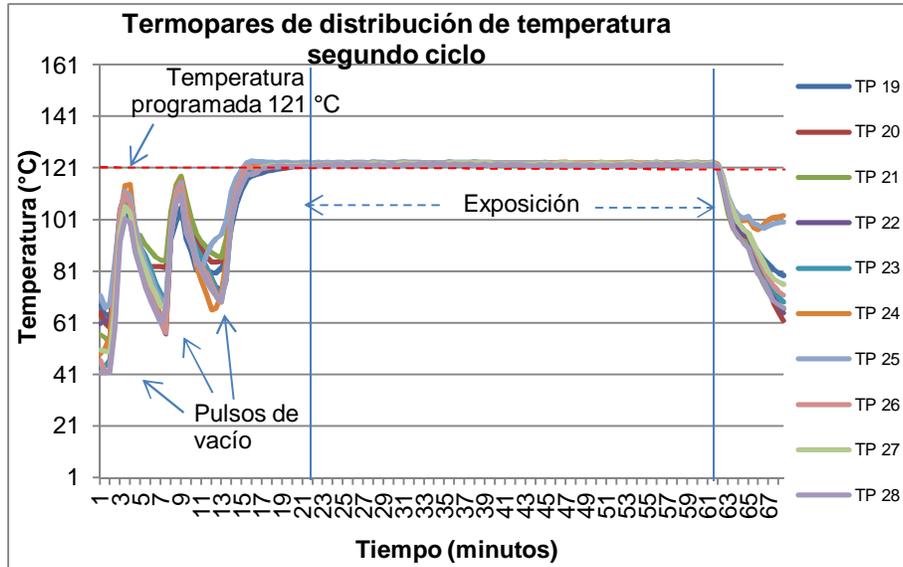


Ilustración 49. Termopares de distribución de temperatura segundo ciclo de equipo de llenado

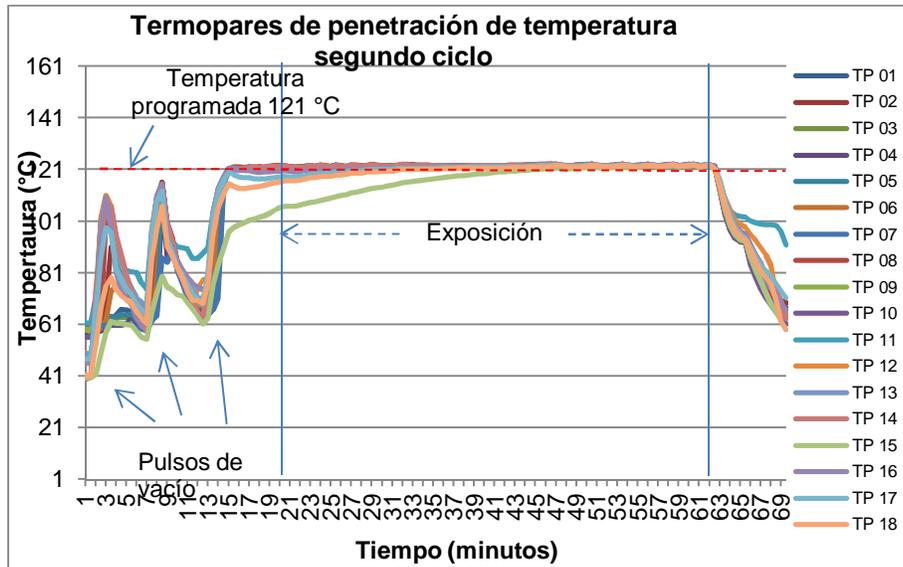


Ilustración 50. Termopares de penetración de temperatura segundo ciclo de equipo de llenado

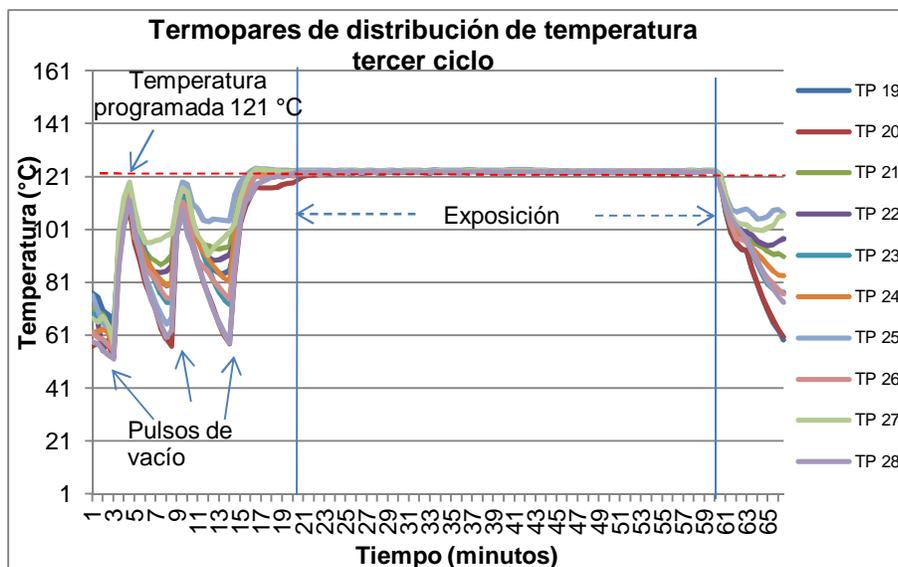


Ilustración 51. Termopares de distribución de temperatura tercer ciclo de equipo de llenado

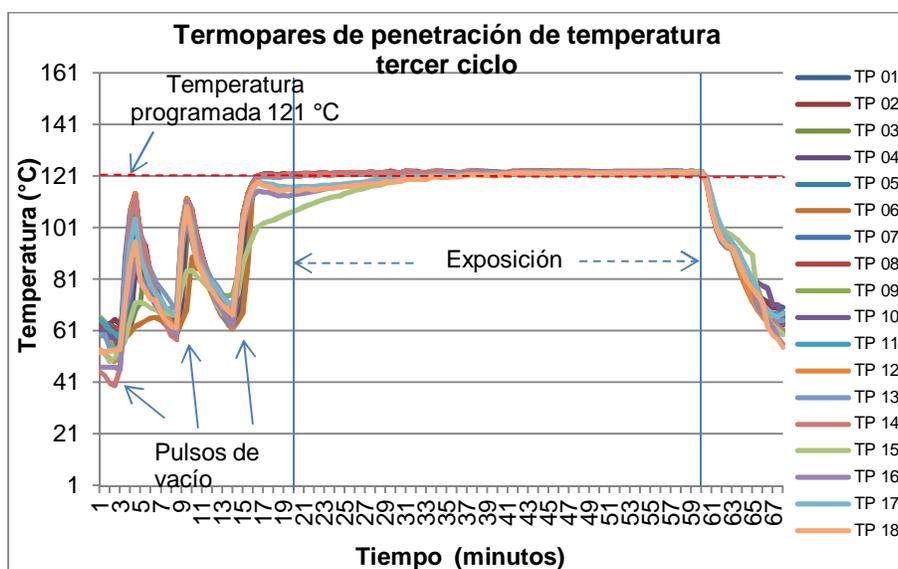


Ilustración 52. Termopares de penetración de temperatura tercer ciclo de equipo de llenado

6.3.4 Control químico

El indicador químico que lleva impreso el papel grado médico para empaquetado de los materiales del patrón de carga viró de color naranja a color marrón; el indicador químico de la cinta testigo viró de color de blanco a negro, el cambio de color indica que los materiales han sido expuestos al proceso de esterilización.

6.3.5 Control biológico

Se utilizaron 18 indicadores biológicos por cada ciclo realizado.

Los indicadores biológicos después de exponerlos al proceso de esterilización e incubarlos no presentaron crecimiento, se revisaron a las 24 y 48 horas.

6.3.6 Cálculo de letalidad

Letalidad acumulada			
Termopar N°	Primer ciclo	Segundo ciclo	Tercer ciclo
Tp 01	50.1	58.1	53.5
Tp 02	50.2	58.3	54.1
Tp 03	49.6	57.1	52.4
Tp 04	48.7	57.5	53.4
Tp 05	50.1	57.4	53.4
Tp 06	49.5	57.4	52.3
Tp 07	50.9	58.3	55.0
Tp 08	52.1	60.0	55.7
Tp 09	50.3	58.6	53.8
Tp 10	50.4	57.4	53.7
Tp 11	51.5	59.0	53.8
Tp 12	49.7	58.1	53.0
Tp 13	54.8	58.0	53.9
Tp 14	52.2	58.9	54.4
Tp 15	38.4	34.1	39.7
Tp 16	49.9	54.4	43.8
Tp 17	47.7	51.2	45.6
Tp 18	47.5	46.8	42.5

Tabla 23. Letalidad acumulada de equipo de llenado

Cálculo	
Media	52.2 min
Desviación estándar	5.4 min
Coeficiente de variación	10 %

Tabla 24. Resumen estadístico de letalidad de equipo de llenado

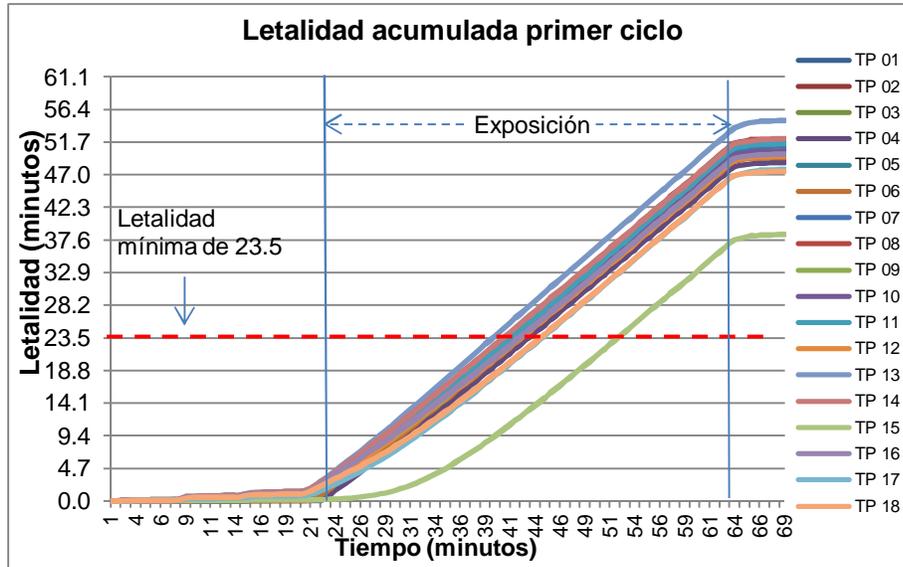


Ilustración 53. Gráfico de letalidad acumulada primer ciclo del equipo de llenado

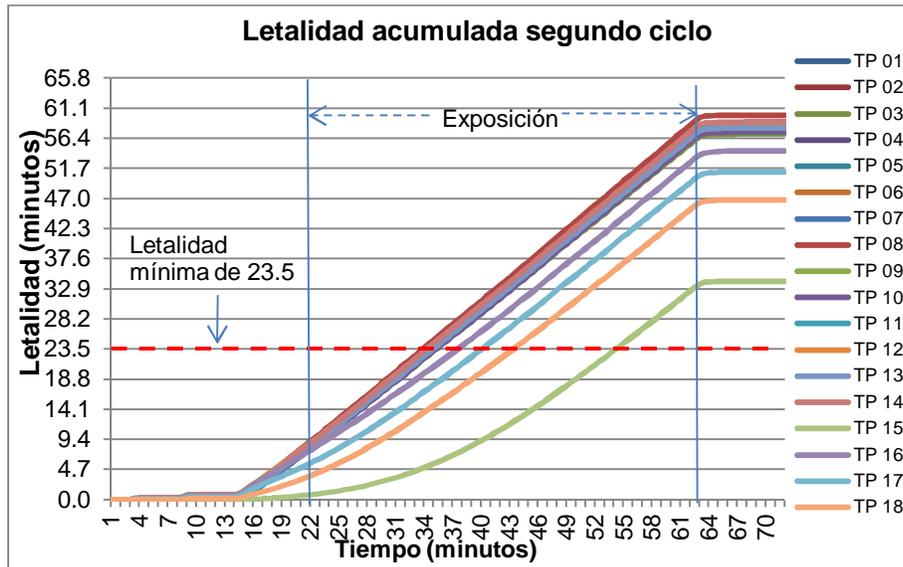


Ilustración 54. Gráfico de letalidad acumulada segundo ciclo de equipo de llenado

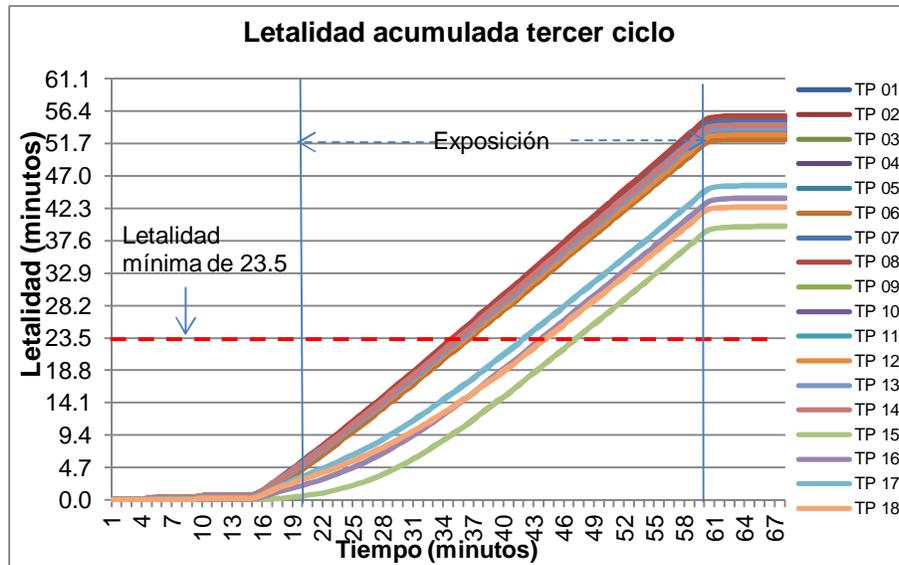


Ilustración 55. Gráfico de letalidad acumulada tercer ciclo de equipo de llenado

6.3.7 Análisis estadístico

Termopar N°	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
Tp 19	122.7	122.8	122.7	
Tp 20	123.4	122.9	122.6	
Tp 21	123.3	122.7	123.0	
Tp 22	122.6	122.7	122.7	
Tp 23	122.5	122.7	122.9	
Tp 24	123.3	123.1	122.9	
Tp 25	122.9	123.2	123.5	
Tp 26	122.8	122.8	122.8	
Tp 27	122.6	122.8	123.1	
Tp 28	122.8	122.2	122.9	Total
Media	122.89 °C	122.79 °C	122.91 °C	122.86
Desviación estándar	0.45 °C	0.33 °C	0.34 °C	--
Coefficiente de variación	0.36 %	0.27 %	0.27 %	--
Intervalo de distribución	0.1 °C	0.07 °C	0.07 °C	--

Tabla 25. Resumen estadístico de termopares de distribución de temperatura de equipo de llenado

Termopar N°	Ciclo 1	Ciclo 2	Ciclo 3	
Tp 01	122.3	122.5	122.5	
Tp 02	122.4	122.6	122.5	
Tp 03	122.2	122.4	122.4	
Tp 04	122.3	122.5	122.5	
Tp 05	122.4	122.5	122.5	
Tp 06	122.3	122.5	122.4	
Tp 07	122.3	122.7	122.7	
Tp 08	122.5	122.8	122.8	
Tp 09	122.2	122.6	122.5	
Tp 10	122.2	122.5	122.5	
Tp 11	122.3	122.6	122.5	
Tp 12	122.1	122.5	122.4	
Tp 13	122.8	122.6	122.6	
Tp 14	122.4	122.6	122.6	
Tp 15	119.1	118.3	120.0	
Tp 16	122.1	122.0	121.0	
Tp 17	121.8	121.7	121.2	
Tp 18	121.7	121.3	120.6	Total
Media	122.09 °C	122.17 °C	122.11 °C	122.12 °C
Desviación estándar	1.68 °C	1.54 °C	1.50 °C	--
Coeficiente de variación	1.38 %	1.26%	1.23%	--
Intervalo de distribución	0.47 °C	0.36 °C	0.40 °C	--

Tabla 26. Resumen estadístico de termopares de penetración de temperatura de equipo de llenado

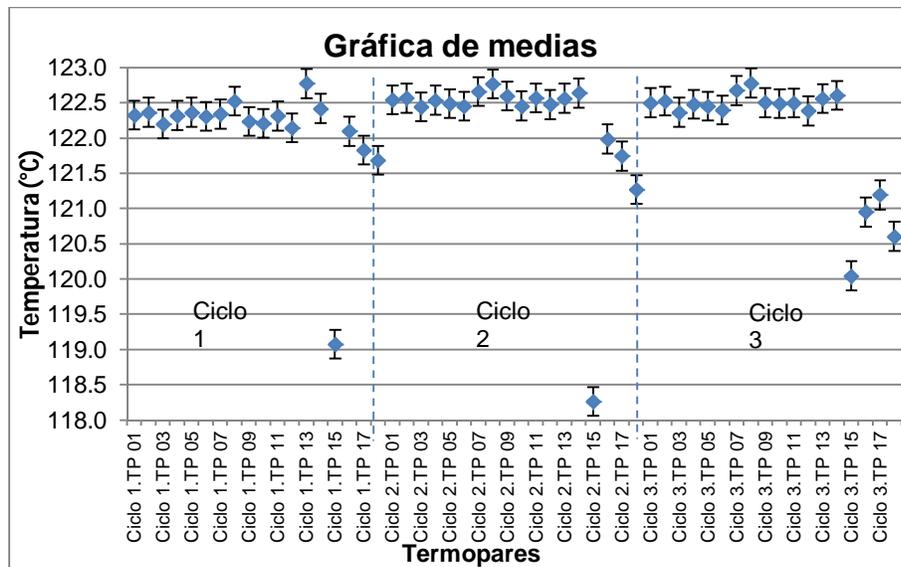


Ilustración 56. Grafica de medias de equipo de llenado

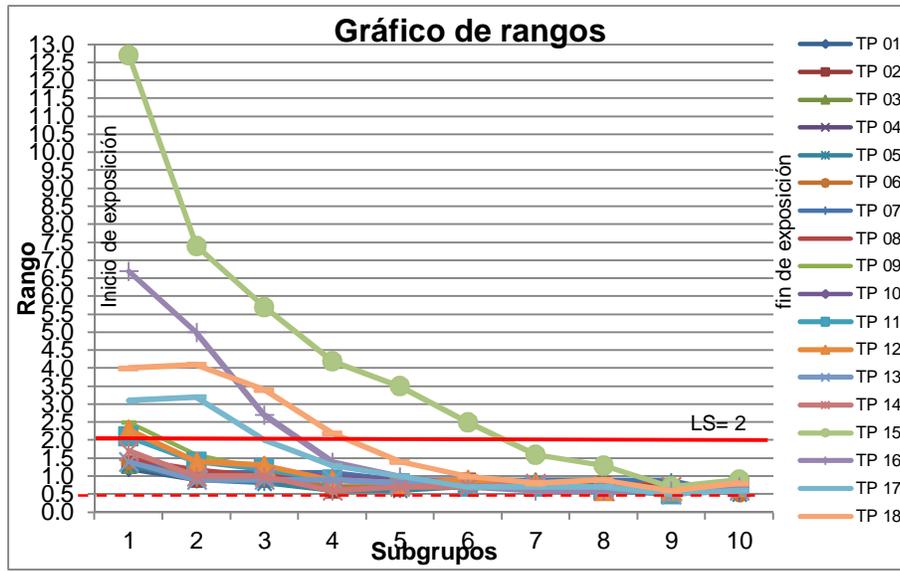


Ilustración 57. Grafico para carta de control de rangos de equipo de llenado

6.3.8 Verificación de la calibración del equipo de termopares

	Calibración a 60 °C		Calibración a 140 °C		Calibración a 100 °C	
Lectura del patrón	60.013 °C		139.887 °C		99.907 °C	
Termopar N°	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error	Lectura del termopar	Error
Tp 1	60.1	0.10	139.9	0.01	99.9	0.03
Tp 2	60.1	0.09	139.8	-0.07	99.9	-0.01
Tp 3	60.0	-0.01	139.8	-0.09	99.8	-0.11
Tp 4	60.1	0.07	139.8	-0.07	99.9	-0.01
Tp 5	60.1	0.09	139.9	0.01	99.9	0.01
Tp 6	60.0	-0.03	139.9	0.01	99.9	-0.01
Tp 7	60.0	-0.06	139.7	-0.19	99.8	-0.11
Tp 8	60.1	0.09	140.0	0.11	100.0	0.09
Tp 9	60.1	0.09	139.9	0.01	99.9	-0.01
Tp 10	60.1	0.09	139.8	-0.09	99.9	-0.01
Tp 11	60.1	0.09	139.8	-0.09	99.9	-0.01
Tp 12	60.2	0.14	139.8	-0.09	99.9	-0.01
Tp 13	60.2	0.19	140.0	0.11	100.0	0.09
Tp 14	60.2	0.19	140.1	0.20	100.1	0.19
Tp 15	60.0	-0.01	139.8	-0.09	99.9	-0.04
Tp 16	60.1	0.04	139.9	0.01	100.0	0.04
Tp 17	60.0	-0.01	139.8	-0.09	99.8	-0.11
Tp 18	59.9	-0.11	139.7	-0.19	99.8	-0.11
Tp 19	60.1	0.09	140.0	0.10	100.0	0.04
Tp 20	60.2	0.19	140.0	0.11	100.0	0.09
Tp 21	60.1	0.07	139.8	-0.09	99.8	-0.07
Tp 22	60.1	0.09	139.9	0.01	99.9	-0.01
Tp 23	60.1	0.09	139.9	0.01	99.9	-0.01
Tp 24	60.2	0.19	139.8	-0.09	99.9	-0.01
Tp 25	60.1	0.07	140.0	0.11	100.0	0.09
Tp 26	60.1	0.04	140.0	0.11	100.0	0.09
Tp 27	60.0	-0.01	139.8	-0.07	99.9	-0.01
Tp 28	60.0	-0.01	139.9	0.01	99.9	-0.01
Incertidumbre media	0.039 °C		0.034 °C		0.037 °C	

Las lecturas son resultado del promedio de 6 mediciones.
 Condiciones ambientales de la medición: temperatura: 24.9 °C, humedad: 39 % HR.
 Criterio de desviación de termopares: 0.5 °C

Tabla 27. Verificación de la calibración del equipo de medición de equipo de llenado

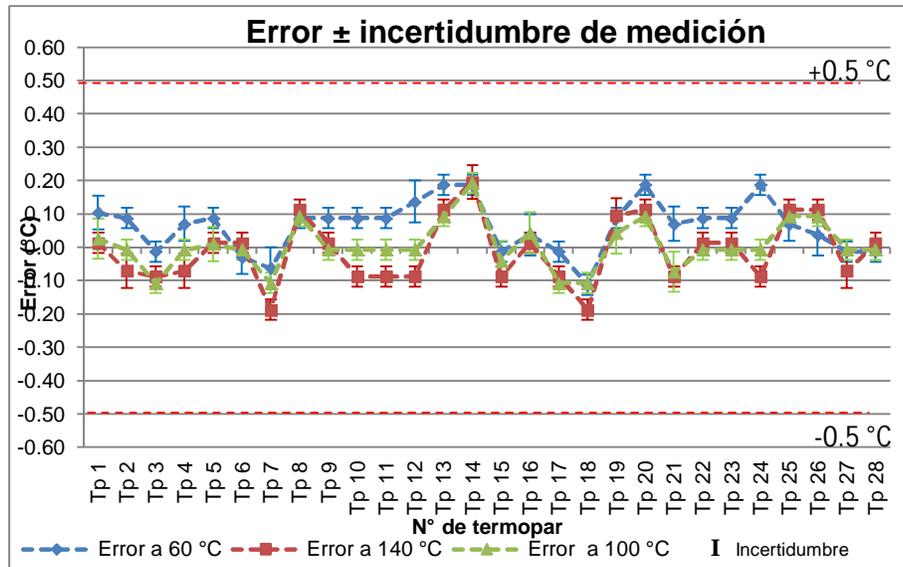


Ilustración 58. Verificación de calibración del equipo de medición de equipo de llenado

CAPÍTULO 7. ANÁLISIS Y DISCUSIÓN RESULTADOS

Estudio de distribución en cámara vacía

La parte inicial del trabajo realizado contempló la calificación de desempeño donde se establece el perfil de temperatura del autoclave en cámara vacía para determinar si el equipo cumple con el control de temperatura de acuerdo a las variables de operación establecidas.

Los resultados de la calibración de los termopares indican que existe una desviación respecto a la lectura del patrón menor a $0.07\text{ }^{\circ}\text{C}$ y una incertidumbre menor a $0.037\text{ }^{\circ}\text{C}$. La calibración cumple con el criterio de desviación de termopares de $\pm 0.5\text{ }^{\circ}\text{C}$.

Los instrumentos de medición y control de la autoclave se encuentran calibrados con dictamen de aprobado, asegurando lecturas confiables para las pruebas ejecutadas.

Los datos obtenidos del monitoreo de temperatura en cámara vacía registran un promedio de $123.5\text{ }^{\circ}\text{C}$ con una desviación estándar de $0.76\text{ }^{\circ}\text{C}$ respecto a la media y un coeficiente de variación de 0.62%

El sensor de temperatura de la autoclave registró un promedio de $121.7\text{ }^{\circ}\text{C}$ respecto al termopar N° 18 que registró un promedio de $122.9\text{ }^{\circ}\text{C}$ El termopar se colocó en el dren que conecta al sensor del sistema de control. Puesto que la ubicación del termopar colocado junto al sensor del sistema de control no representa una medida tangible de la cámara por la distancia que existe entre ellos, los registros del termopar se toman como informativos.

La diferencia de temperatura obtenida del sensor del sistema de control respecto al termopar se atribuye a la imperfección natural de la medición ya que la distancia entre ellos dificulta conocer con certeza absoluta el valor verdadero de la magnitud.

En la representación gráfica de los datos obtenidos en la Ilustración 29 se observa un meticuloso comportamiento de temperatura, el gráfico de rangos en la Ilustración 31 podemos apreciar cómo el autoclave en el último pulso de vapor incrementa la temperatura, posteriormente va disminuyendo la variabilidad de la temperatura ocasionada por el último pulso de vapor, esta disminución es dependiente del tiempo.

Las oscilaciones observadas a lo largo del ciclo pertenecen al control de la temperatura, donde el equipo abre o cierra una válvula neumática para mantener la presión con inyecciones alternadas de vapor, recordando que los resultados de la prueba de hermeticidad indicaron que la cámara es hermética, implica que no hay posibilidad de penetración de aire no filtrado hacia el interior de la cámara, ya que esta condición puede comprometer la distribución de temperatura y pérdidas de presión.

En la Ilustración 30 se representa la ubicación puntual del promedio de cada termopar donde se observa una dispersión de datos por termopar de $0.33\text{ }^{\circ}\text{C}$, calculada de la técnica de análisis de medias basada en la construcción de intervalos de distribución que reflejan la variabilidad de temperatura en cada punto de monitoreo.

El promedio de temperatura más elevado fue registrado por el termopar N° 15, que se localiza adyacente al suministro de vapor a la derecha de la cámara con un promedio de $124.2\text{ }^{\circ}\text{C}$. El promedio de temperatura más bajo fue registrado por el termopar N° 5 ubicado

en la parte media de la cámara en la zona de carga con un promedio de 122.8 °C, esta zona se considera el punto frío de la cámara, no obstante el acomodo de termopares se realizó de tal manera que las puntas no estuvieran en contacto con la superficie de la cámara o la zona de carga para descartar la presencia de condensados de vapor que pueden ocasionar caídas de temperatura y reducción en la transferencia de calor (Ilustración 59).

Los termopares más cercanos a la salida de condensados no presentan diferencias significativas respecto a la media, como tampoco los termopares ubicados en la zona más alejada del suministro de vapor.

Los resultados de la verificación de la calibración indican que posterior al estudio los termopares no sufrieron daños y cumplen con los criterios de aceptación.

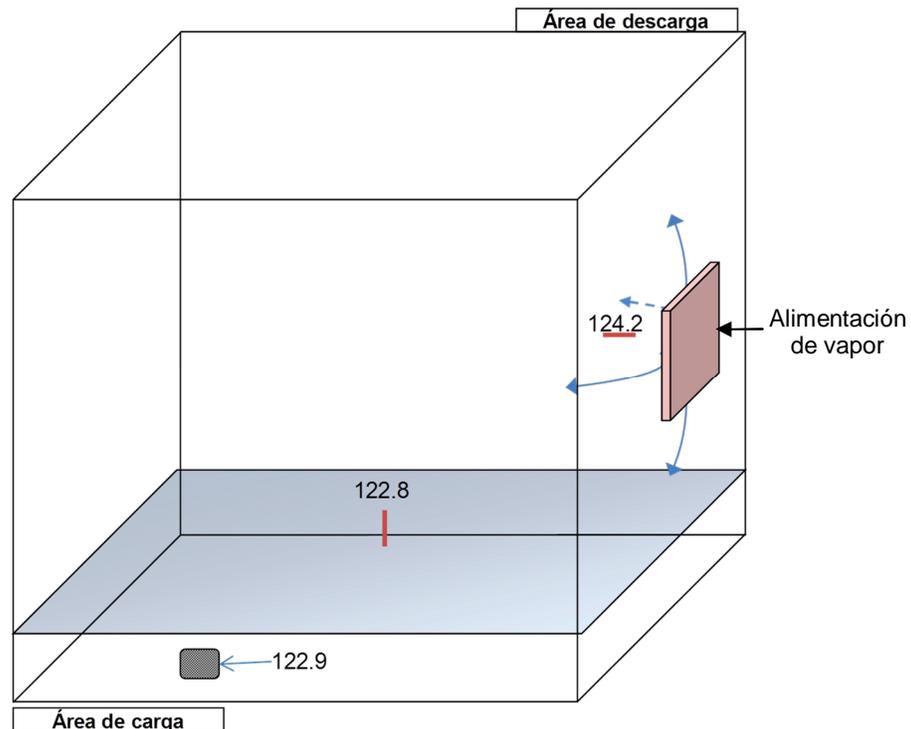


Ilustración 59. Ubicación de temperatura máxima y mínima estudio de distribución en cámara vacía

La autoclave inyecta pulsos de vapor continuamente, el control de las condiciones dentro de la cámara se realiza a través de un transductor que emiten una señal para abrir la válvula de alimentación de vapor cuando la temperatura es menor a 121 °C lo que permite elevar la temperatura y presión, cuando la temperatura es mayor a 122 °C la señal emitida cierra la válvula de alimentación de vapor para permitir el descenso de temperatura y presión. Esta acción la realiza en fracciones de segundos, los gráficos reflejan estas pequeñas variaciones inherentes al control del equipo.

La USP en el método de análisis 1209 menciona que un intervalo típico y aceptable de temperatura en el interior de la cámara vacía es de ± 1 °C cuando la temperatura de la cámara no es menor de 121 °C; asimismo hay que considerar que por diseño el equipo ejerce el control 1 °C por encima de la temperatura programada para garantizar que en un peor caso la temperatura no estará por debajo de la temperatura de control. Con los

resultados obtenidos y considerando lo anterior se interpreta que la temperatura es homogénea a lo largo de la cámara, ya que no existe variabilidad significativa en cada punto de monitoreo.

Se concluye que el equipo es capaz de controlar y mantener las condiciones de temperatura.

Recuento de esporas

La FEUM en el método de análisis 0501 señala que el funcionamiento del indicador biológico depende tanto de la cuenta inicial de esporas viables, como de su resistencia al proceso. La USP en el método de análisis 1035 refiere que es responsabilidad del usuario de indicadores biológicos comerciales, realizar un recuento para determinar la población por unidad del indicador. Este requisito influye de manera importante para conocer que la población del indicador está estandarizada y así garantizar que los indicadores biológicos cumplen con las necesidades del proceso de esterilización.

La investigación de Bedoya (2008) habla de los microorganismos como seres vivos no estandarizables en características como resistencia y respuesta a condiciones externas. Es posible trabajar con rangos típicos y condiciones específicas. Derivado de lo anterior es que se emite por el fabricante un certificado que constata la población y el valor D entregado al lote de indicadores.

En el presente estudio se emplearon indicadores biológicos con una población por tira declara por el fabricante de 2.5×10^6 . En los resultados del recuento se obtuvo una población de 2.8×10^6 esporas por tira con un porcentaje de recuperación del 112% cumpliendo con los niveles de recuperación que no es menor al número especificado en la etiqueta ni mayor al 300%. Este criterio de aceptación puede parecer un margen enorme sin embargo no afecta el tiempo de muerte de los indicadores ya que en valores logarítmicos la cantidad es despreciable.

Se observa una clara diferencia en el porcentaje de recuperación, no obstante podemos constatar que el método proporciona resultados satisfactorios y que las esporas de *Geobacillus stearothermophilus* son capaces de crecer en presencia del medio de cultivo.

Los indicadores biológicos utilizados para la validación del proceso cumplen con los requerimientos normativos y de calidad.

El testigo negativo de medio de cultivo no presentó crecimiento microbiano; esto demostró que el medio de cultivo no contenía carga microbiana que pudiese interferir el resultado generado con falsos positivos.

Posterior a la verificación de la población de los indicadores biológicos se continúa con las pruebas para la validación del proceso de esterilización de los patrones de carga. Fuente de letra.

Validación de uniformes para área aséptica

Los resultados de la calibración de los termopares indican que existe una desviación respecto a la lectura del patrón menor a $0.05 \text{ }^\circ\text{C}$ y una incertidumbre menor a $0.031 \text{ }^\circ\text{C}$, la calibración cumple con el criterio de desviación de termopares de $\pm 0.5 \text{ }^\circ\text{C}$.

Los instrumentos de medición y control de la autoclave se encuentran calibrados con dictamen de aprobado, asegurando lecturas confiables para las pruebas ejecutadas.

Los datos obtenidos del monitoreo de temperatura de los termopares de distribución registran un promedio de 123.38 °C, los promedios de los 3 ciclos no son significativamente diferentes uno de otro, la desviación estándar más alta registrada fue de 0.63 °C y un coeficiente de variación de 0.51 % del tercer ciclo. El valor de la dispersión de datos por ciclo fue menor a 0.19 °C. Bedoya (2008) señala como propósito del estudio de distribución verificar la uniformidad del medio de calentamiento. En este sentido, de los resultados obtenidos se interpreta que la temperatura es homogénea a lo largo de la cámara, evidenciando que para el estudio no existe variabilidad significativa de temperatura en cada punto de monitoreo de los termopares de distribución.

En comportamiento de los termopares de distribución se ve influenciado por del patrón de carga ya que las temperaturas máximas y mínimas de distribución respecto al perfil en cámara vacía se desplazaron; los promedios de mayor temperatura fue registrada en la parte frontal del equipo en la línea que recorre el suministro de vapor, los promedios de menor temperatura se localizan en la parte posterior izquierda en la zona más alejada del suministro de vapor (Ilustración 60).

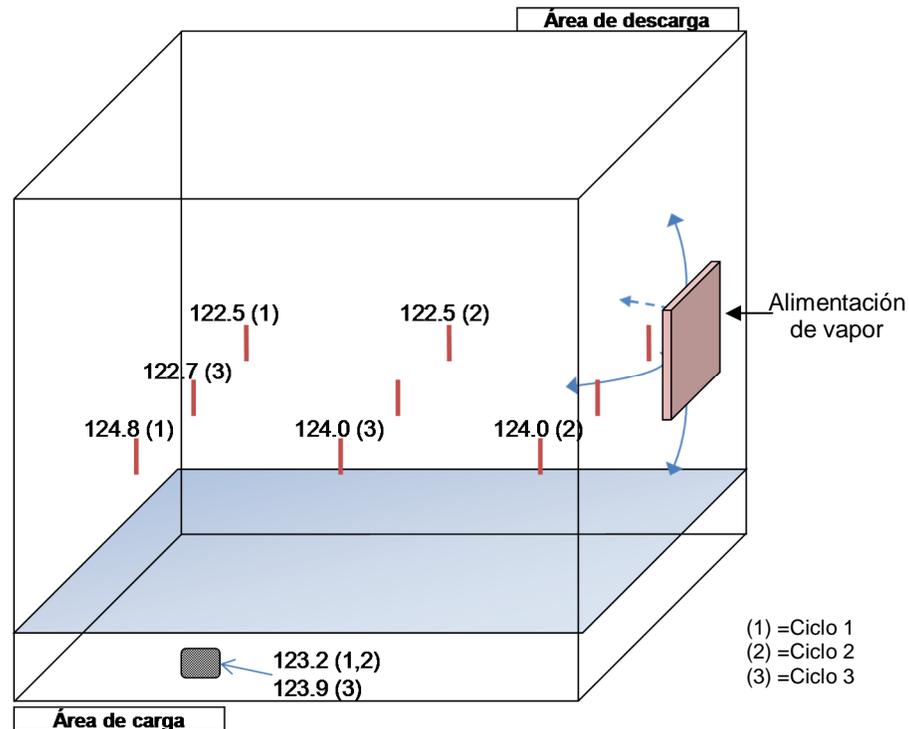


Ilustración 60. Ubicación de temperatura máxima y mínima de distribución de uniformes

El promedio de temperatura del monitoreo de los termopares de penetración fue de 122.48 °C con una desviación estándar máxima de 1.03 °C en el segundo ciclo y un coeficiente de variación de 0.84 %.

La temperatura de penetración no presenta un modelo de comportamiento definido, sin embargo se presenta una tendencia. Los promedios de temperatura más baja tienden a ubicarse en la zona posterior de la cámara principalmente en los zapatonos de los uniformes donde el material está compuesto de polímeros que presentan resistencia térmica

(Ilustración 61). Los promedios de temperatura más alta se ubican en la parte central de la cámara con dirección a la salida del suministro de vapor cuya posición permite que la presión de vapor ingrese de forma directa.

En las tres corridas se obtuvieron valores de F_0 superiores a 23.5 minutos de acuerdo con el criterio establecido. Los valores obtenidos de letalidad van de 29.8 minutos hasta 35.9 minutos equivalentes a la temperatura base de 121,1 °C. El comportamiento de letalidad tiene ligeras variaciones respecto al comportamiento de los promedios de temperatura; se esperaba que la letalidad más baja se obtenga del promedio de temperatura más bajo y la letalidad más alta del promedio de temperatura más alto, sin embargo se observó que el ascenso y descenso de temperatura del ciclo tiene influencia sobre la letalidad acumulada, el aporte de letalidad en promedio es de 2.2 minutos principalmente durante las pulsaciones de vapor y 1.4 minutos durante la despresurización de la cámara.

Durante la ejecución del primer ciclo se observa notablemente cómo aumenta el promedio de temperatura del termopar N° 1 ubicado en la parte posterior de la cámara, esto se debe a que sufrió movimientos durante el acomodo de la carga que modificaron la posición original en el centro del uniforme. A pesar de ello el termopar seguía dentro en los pliegues ubicados al borde del mismo, es decir que los datos obtenidos forman parte del perfil de temperatura del patrón de carga, que incuestionablemente recibió un mayor aporte de letalidad, es por esta razón que los registros obtenidos no se consideran individualmente para la interpretación estadística pero si para los cálculos estadísticos generales.

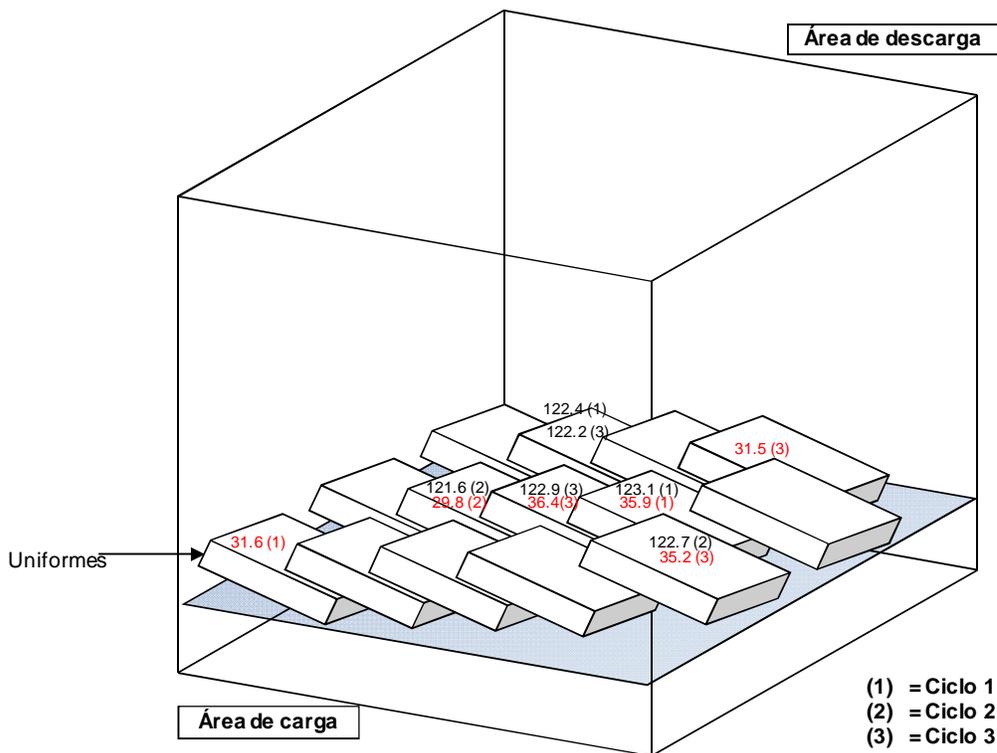


Ilustración 61. Ubicación de temperatura y letalidad máxima y mínima de uniformes

En la representación gráfica de los datos se observa un meticuloso comportamiento de temperatura, el gráfico de rangos en la Ilustración 31 podemos apreciar cómo el autoclave en

el último pulso de vapor incrementa la temperatura, posteriormente va disminuyendo la variabilidad de la temperatura, esta disminución es dependiente del tiempo.

La desviación estándar y el coeficiente de variación muestran que la dispersión del conjunto de datos respecto a la media presenta variabilidad, para visualizar estos resultados se realizó la gráfica de medias que representa la ubicación puntual del promedio de cada termopar donde se observa una dispersión de datos por termopar máxima de 0.40 °C, de estos resultados se interpreta que la magnitud del conjunto es mayor a la variabilidad de temperatura dentro de cada material, ya que la temperatura es simétrica alrededor de cada punto de monitoreo.

Se concluye que los materiales que componen la carga influyen significativamente en la velocidad de penetración del vapor, u que este comportamiento es constante, reproducible y característico del patrón de carga.

Validación del Equipo de Llenado

Los resultados de la calibración de los termopares indican que existe una desviación respecto a la lectura del patrón menor a 0.12 °C y una incertidumbre menor a 0.035 °C, la calibración cumple con el criterio de desviación de termopares de ± 0.5 °C.

Los instrumentos de medición y control de la autoclave se encuentran calibrados con dictamen de aprobado, asegurando lecturas confiables para las pruebas ejecutadas.

Los datos obtenidos del monitoreo de temperatura de los termopares de distribución registran un promedio de 122.86 °C, con una diferencia entre el promedio más alto y más bajo de 0.12 °C, la desviación estándar más alta registrada fue de 0.45 °C y un coeficiente de variación de 0.36 % del primer ciclo. El valor de dispersión de datos por ciclo fue menor a 0.10 °C. De estos resultados se interpreta que la temperatura de la cámara es homogénea.

El comportamiento de los termopares de distribución no presenta un esquema definido como se observó en el estudio de cámara vacía y los estudios de validación de uniformes que se mantiene un patrón de comportamiento, sin embargo en los estudio del equipo de llenado podemos concretar que existe una divergencia en la ubicación de la zona de menor y mayor temperatura que no afecta la homogeneidad de la misma.

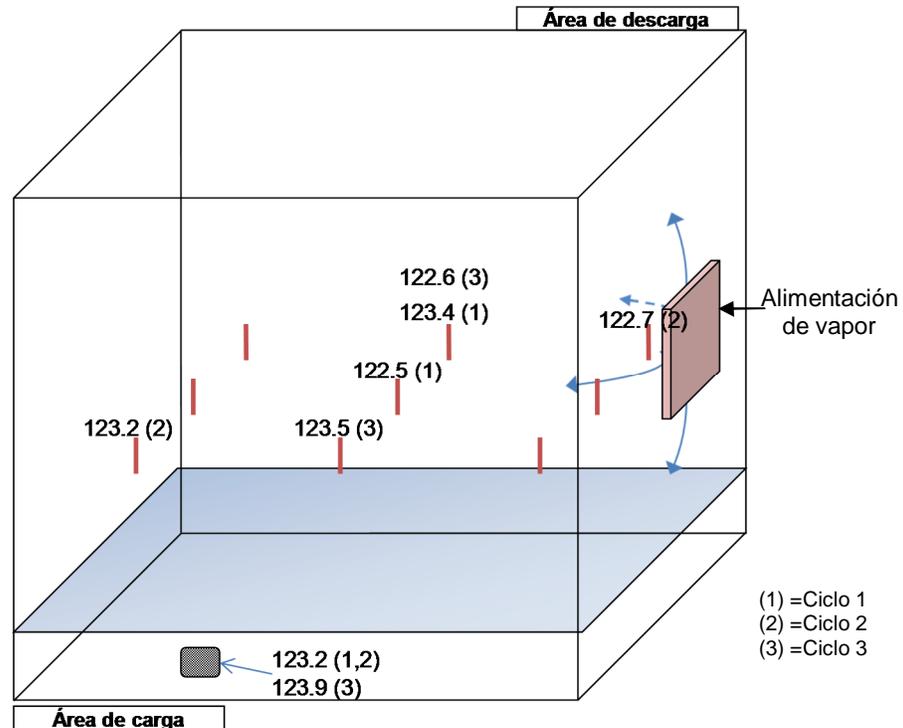


Ilustración 62. Ubicación de temperatura máxima y mínima de distribución de equipo de llenado

El promedio de temperatura del monitoreo de los termopares de penetración fue de 122.12 °C con una desviación estándar máxima de 1.68 °C en el primer ciclo y un coeficiente de variación de 1.38 %.

Los datos obtenidos de los termopares de penetración registran los promedios más bajos correspondientes al filtro pirinola, filtro de 0.22 micras, mangueras de silicón, lienzos libres de partículas, ubicados dentro de los recipientes de acero inoxidable. La composición de los materiales en base a polímeros, así como las fibras que componen los lienzos libres de partículas poseen alta resistencia térmica lo que ocasionan que la transferencia de calor se lleve a cabo gradualmente.

Los promedios de temperatura más alta se ubican a la salida del suministro de vapor cuya posición permite que la presión de vapor ingrese de forma directa a los tapones de nitrilo.

En las tres corridas se obtuvieron valores de F_0 superiores a 23.5 minutos, de acuerdo con el criterio establecido. El comportamiento de letalidad es homologado al comportamiento de los promedios de temperatura. No se observó una aportación de letalidad elevada durante ascenso y descenso de temperatura del ciclo, el aporte de letalidad en promedio es de 2.7 minutos principalmente durante las pulsaciones de vapor, y 1.0 minutos durante la despresurización de la cámara.

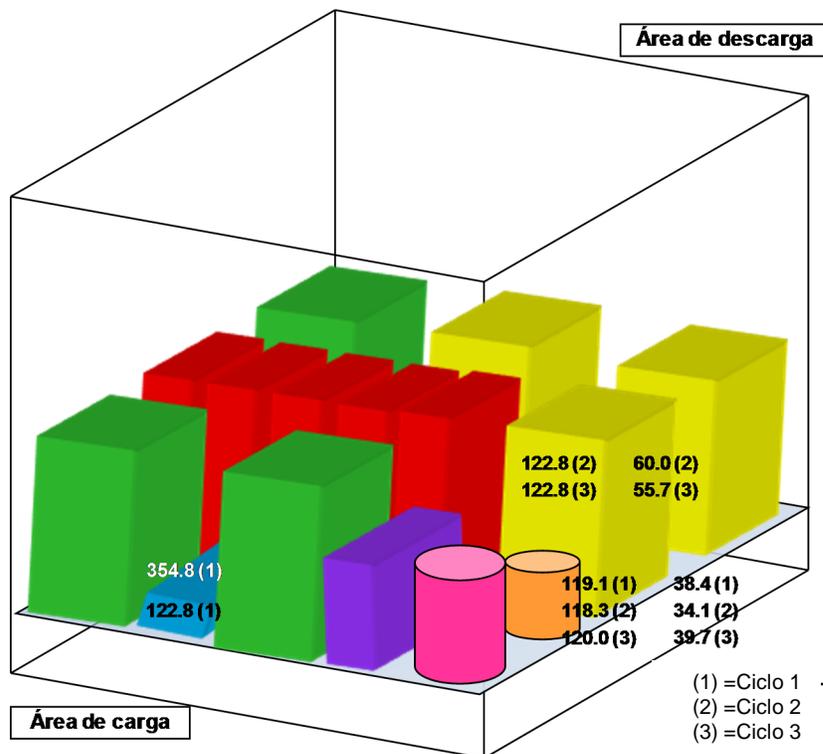


Ilustración 63. Ubicación de temperatura y letalidad máxima y mínima de equipo de llenado

En la representación gráfica de los datos obtenidos se observa el incremento gradual de temperatura del termopar N° 15, donde se ubica el lienzo libre de partículas. En la Ilustración 31 podemos apreciar como el autoclave en el último pulso de vapor incrementa la temperatura, posteriormente se va reduciendo la variabilidad de temperatura hasta que las oscilaciones de temperatura son mínimas. En el trabajo realizado por Bedoya (2008) explica como el centro geométrico del contenedor de la carga, es el punto de calentamiento lento debido a que existe un flujo de vapor en la parte superior que debe penetrar cierta cantidad de materiales antes de llegar al punto medio, mientras que en la parte inferior se tiene contacto directo del contenedor con la zona de carga ambos con una composición de acero inoxidable que transfiere calor a los materiales.

La desviación estándar y el coeficiente de variación indican que la dispersión del conjunto de datos de cada ciclo respecto a la media presenta una magnitud significativa, en el gráfico de medias podemos visualizar la ubicación puntual del promedio de temperatura de cada termopar donde observamos una dispersión de datos máxima de 0.47 °C que indica que la magnitud del conjunto es mayor a la variabilidad de temperatura dentro de cada material.

Esta variabilidad es claramente indeseable y lo ideal sería reducirla al mínimo sin embargo es intrínseca al patrón de carga. La validación del proceso nos permite caracterizar y obtener un mayor conocimiento del mismo, para estimar la estabilidad y reproducibilidad.

El proceso de esterilización está sometido a una serie de factores que hacen inverosímil que cada ciclo sea exactamente igual, como por ejemplo, temperatura de la cámara antes del inicio del ciclo, humedad del patrón de carga, técnica de acomodo, técnica de empaque de los materiales, saturación de filtros, desgaste de componentes mecánicos, estado de las

líneas de servicios de vapor y aire comprimido, no obstante ninguno de estos factores tuvieron un efecto preponderante en el perfil de comportamiento del patrón de carga.

Se concluye que los materiales que componen el patrón de carga del equipo de llenado influyen significativamente en la velocidad de penetración de vapor, este comportamiento es constante, reproducible y característico del patrón de carga.

Indicadores biológicos

Los indicadores biológicos sometidos a la esterilización recibieron las condiciones de presión y temperatura necesarias para eliminar las esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, brindando una evidencia física de la robustez del proceso.

El EZtest indicador biológico es un indicador auto-contenido que brinda ventajas económicas por su bajo costo, optimización de recursos materiales, obtención de resultados visuales en 24 horas facilidad de análisis y manipulación por su diseño. Esta presentación permitió eliminar falsos positivos por contaminación que se puede generar durante su manipulación.

Para el estudio de validación hay que evaluar el impacto de uso ya que la cantidad de medio de cultivo a la que está expuesta la tira es únicamente de 1 ml, con una relación 1 a 100 respecto a otras presentaciones aunque se sabe que las bacterias llegan normalmente a presentar crecimiento en la fase estacionaria hasta una concentración de 10^9 células por mililitro pero se reduce la probabilidad de encontrar esporas viables por adhesión a la tira evitando el contacto con el medio de cultivo. Idealmente el nivel de crecimiento es proporcional a la concentración de nutrientes proporcionados, si la cantidad de medio de cultivo se duplica lo hace también el crecimiento bacteriano.

Los tiempos de incubación de acuerdo a las indicaciones del fabricante permite la obtención de resultados visuales en 24 horas no obstante hay que recordar que el crecimiento de una bacteria no es inmediato la célula necesita sintetizar componentes en el periodo de latencia, suponiendo que durante el proceso de esterilización se haya alterado o sufrido algún daño la célula puede mantenerse metabólicamente activa sin presentar crecimiento y prolongar la fase de latencia.

Es necesario emplear un método que permita un óptimo tratamiento del indicador ya que la tira de esporas posee una superficie de contacto limitada con el medio de cultivo.

La producción de ácido láctico a partir de la dextrosa puso en manifiesto el viraje al amarillo del indicador de pH púrpura de bromocresol en el control positivo.

El indicador químico de temperatura incluido en la etiqueta cambió de color pasando del azul al negro una vez que se ha producido la exposición a la temperatura del ciclo.

Validación

El concepto de Validación no es un concepto nuevo, sin embargo está rodeado de confusión, no es más que la documentación sistematizada de un proceso, abarca conceptos de verificación, comprobación y control. Hay que recordar que las actividades de validación son plasmadas en un protocolo que regula y organiza las actividades específicas y criterios de aceptación, derivadas del conocimiento previo del proceso que se obtiene en la etapa de diseño. Para el presente trabajo las actividades se plasmaron en la metodología, que nos

dice qué hacer y cómo hacerlo. Derivado del protocolo se genera un informe donde se documentan los resultados obtenidos y la discusión de los mismos para dictaminar si el proceso se considera validado.

La validación es una parte esencial del sistema de control de la calidad del proceso para proporcionar seguridad y eficacia al producto final.

Durante la investigación del presente trabajo se encontró información substancial que apoya un mejor entendimiento de la metodología a seguir, sin embargo no se encontró información que proporcione datos experimentales con el cual podamos realizar una confrontación de teorías o problemáticas. En tal situación se infiere que los fabricantes de medicamentos se están limitando a realizar lo mínimo indispensable para cumplir con la regulación sanitaria, pero no publican cómo llevar a cabo la validación de procesos de esterilización.

El presente trabajo pretende hacer énfasis en la importancia de la validación, no sólo como un requerimiento normativo, si no como una herramienta para demostrar el control de las operaciones y la calidad del producto.

Con los resultados obtenidos demostramos a través de la documentación generada, que los patrones de carga evaluados son efectivos y producen consistentemente un proceso que cumple con las especificaciones establecidas.

Estas pruebas documentales establecen un grado de certeza de que el proceso genera resultados consistentes. Por lo anterior el proceso de validación del proceso de esterilización del patrón de carga de uniformes para área aséptica y equipo de llenado ha sido validado en las instalaciones de Laboratorios Mexicanos.

Por ningún motivo debe darse por hecho que el proceso se mantiene a través del tiempo con la información derivada de la validación, debe comprobarse con evaluaciones periódicas a través del mantenimiento del estado validado y realizar al menos un ciclo de esterilización con las condiciones de operación de la validación inicial y valorar que se hayan mantenido las características del ciclo, para sustentar el mantenimiento del estado validado se debe recurrir a los sistemas de calidad como son auditorías internas, control de cambios, no conformidades, programa de mantenimiento preventivo y programa de calibración, para evaluar si se requieren pruebas adicionales o una revalidación.

CAPÍTULO 8. CONCLUSIONES

La autoclave debe ser diseñada, instalada y calificada de forma que garantice su fiabilidad.

El estudio de distribución de temperatura realizado en la calificación de desempeño nos ayuda a determinar si los componentes del equipo son capaces de generar las condiciones de temperatura requeridas.

La medición y registro de los perfiles de temperatura de los ciclos de esterilización, así como el cálculo de F_0 y el reto de indicadores biológicos, constituyen un método adecuado para demostrar la efectividad del proceso de esterilización.

Con los resultados obtenidos mostramos documentalmente que el ciclo es aceptable así como los resultados del reto de indicadores lo que genera condiciones de temperatura adecuadas para el proceso de esterilización del patrón de carga.

Cualquier cambio realizado que no corresponda a lo documentado, deberá ser sujeto a una nueva validación, para garantizar un proceso de esterilización reproducible.

CAPÍTULO 9. RECOMENDACIONES

Para aumentar la confiabilidad de la validación en lo relativo a los indicadores biológicos se recomienda implementar un método de análisis más riguroso y robusto, que permita a la tira de esporas una mayor superficie de contacto con el medio de cultivo, aumentando la cantidad de medio de cultivo así como el tiempo de incubación. Formato: fuente de texto.

CAPÍTULO 10. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Osakidetza Servicio Vasco de Salud. (2004). *Guía para la gestión del proceso de esterilización*. País Vasco.
- European Pharmacopoeia 6.0. (2007). 5.1.5. *Application of the Fo concept to steam sterilization of aqueous preparations*. European Pharmacopoeia Commission.
- Abeja, R. P. (2009). Propuesta de un Sistema de Control e Instrumentación para una Esterilizadora de Vapor Grado Hospitalario. *Tesis de licenciatura, Escuela Superior de Ingeniería, Mecánica y Eléctrica*. Mexico D.F.: Instituto Politecnico Nacional.
- Agaloco, J., & Carleton, F. J. (2008). *Validation of Pharmaceutical Processes* (Tercera ed.). Nueva York: Informa Healthcare.
- Arriola Peñalosa, M. (2013). Buenas Prácticas Regulatorias. *VII Conferencia de la Red Panamericana para la Armonización de la Reglamentación Farmacéutica (CPARF)*. Canadá: Comision Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS).
- Barajas González, N. (2011). Propuesta de Mejora Utilizando Diseño de Experimentos en el Desarrollo de Técnicas Analíticas en un Laboratorio Farmacéutico. *Tesis de Licenciatura, Unidad Profesional Interdisciplinaria de Ingeniería y Ciencias Sociales y Administrativas. Instituto Politécnico Nacional*. México, D.F.
- Bedoya Rivera, L. G. (2008). Análisis del Proceso de Esterilización con Calor Húmedo para Productos de la Salud. *Tesis de Licenciatura, Facultad de Ingeniería. Universidad Autónoma de Occidente*. Colombia.
- Boden, L. (2006). Z-Value Calculation. *Spores News*, 3(2), Páginas 1-9.
- Bringert, G. (2000). *Explanation of Lethality Rate and Logarithmic Reduction*. Kaye Instruments, Inc.
- Cameron Gruner, O. (1970). a treatise on the canon of medicine of avicenna incorporating a translation of the first book. *Traducción de Garde Herce, Gabriel. Canon de Avicena 2010*, 332-399. Nueva York.
- Castillo Carlos, S. (Noviembre de 2003). Aplicación de la estrategia Seis sigma en los procesos de validación. Laboratorios Andromaco. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 34, Páginas 7-8.
- Chandrapati, S. (Noviembre de 2008). A biological indicator History. *MANAGING INFECTION CONTROL*, Página 86.
- Chapman, K. G., Amer, G., Boyce, C., Brower, G., Cindy, G., Hall, W. E., y otros. (Febrero de 2000). Proposed Validation Standard VS-1, Glosary. *Journal of Validation Technology*, 6(2), Página 516.
- CYTNIS S.A. de C.V. (2011). Breve historia de los indicadores biológicos. Traducido de "Healthcare Purchasing News" Por Heide Ames y Linda Clemente". México.
- DeSantis, P. (2008). Steam Sterilization in Autoclaves. *Validation of Pharmaceutical Processes. Schering-Plough Inc*. New Jersey.

- Emanuel Goldman, L. H. (2008). *Practical handbook of microbiology* (segunda ed.). Nueva York: Taylor & Francis Group, LLC.
- F. H. Kayser, K. A. (2005). *Medical Microbiology*. Alemania: Theime.
- Francisco Sánchez, J., & Islas Pérez, V. (1997). La Evolución de la Farmacia en México. México D.F.: Universidad Nacional Autónoma de México, Facultad de Estudios Superiores de Zaragoza.
- GE. Kaye Instruments Inc. (2004). Validator 2000, User's Guide. (M4350E), Revisión 5.
- GE. Sensing and Inspection Technologies. (2009). Guía de validación térmica y calibración de temperatura. (Revision BR-146A_ES), Página 10.
- Hojo, T. (January de 2004). Quality Management System-Process Validation Guidance. *Segunda*, Página 3. The Global Harmonization Task Force.
- Hugo Zaragoza, M. (febrero de 2003). Diseño Integral de una Farmacia Hospitalaria. *Tesis de Maestría, Instituto de Ciencias de la Administración. Universidad Católica de Córdoba*. Cordoba: Universidad Católica de Cordoba, Instituto de Ciencias de la Administración.
- Ibañez Brambila, B. (2011). *Manual para la elaboración de Tesis* (Primera ed.). México D.F.: Trillas.
- Industrias Högner S.A. (2008). Diagrama de Instalación Autoclave VAP 5001 PHARMA . Argentina.
- Instituto Interamericano de cooperación para la agricultura. (Junio de 1999). Plantas Medicinales en Atención Primaria de Salud, Agroindustria, Fitoquímica y Ecoturismo. Lima, Perú.
- Lewis, R. G. (2002). Practical Guide to Autoclave Validation. *The Official Journal of ISPE*, 21(4).
- Licea Panduro, D., & Méndez Lango, E. (Abril de 2008). Guía técnica sobre trazabilidad e incertidumbre de las mediciones en la caracterización térmica de baños y hornos de temperatura controlada. Centro Nacional de Metrología. (revisión 00). México.
- M. Pérez, M. M. (2006). *Bacteriología y Virología Médica, Departamento de Bacteriología y Virología. Universidad de la República* (Segunda ed.). Uruguay.
- Martínez Flores, E. (2009). Importancia de la Certificación en la Industria Farmacéutica. Terra Farma S.A. de C.V.
- Martínez Flores, E. (Marzo de 2009). Revisión e interpretación del nuevo documento regulatorio en Buenas Prácticas de Fabricación NOM-059-SSA1-2006. Terra Farma S.A. de C.V. Toluca, México.
- Matzinger, K. (2007). Impact of Culture Media on Biological Indicator Spore Recovery. *Spore News*, 4(1), Páginas 1-4.
- Melamud, P. A. (2009). A Brief History of US FDA Good Manufacturing Practices (GMPs). Bridgewater, NJ: QPharma.
- Mesa Lab. (2012). Technical report EZTest® Steam, *Geobacillus stearothermophilus*. Revisión 9(7703). Bozeman: SGM Biotech.

- Morales, P., & Azuaga, M. (1997). Calibración de una termocupla de Chromel-Alumel. Buenos Aires, Argentina: Departamento de Física - UBA.
- Muñoz Razo, C. (2011). *Como elaborar y asesorar una investigación de tesis* (Segunda ed.). México: Pearson.
- Noah Kramer, S. (1985). La Historia Comienza en Sumer. Página 61. Barcelona: Ediciones Orbis S.A.
- Ortiz Gómez, D. S. (2008). Validación e Implementación de una Metodología para el Análisis Microbiológico de un Producto Líquido Preservado Elaborado en la Industria Farmacéutica. Bogotá, Colombia: Facultad de Ciencias. Pontificia Universidad Javeriana.
- Patricia Martínez, M. A. (1997). Calibración de una termocupla de Chromel-Alumel. Buenos Aires: Departamento de Física, Universidad de Buenos Aires.
- Perdomo Morales, R., & Montejo Alejo, V. (2003). Validación de un ciclo de despirogenización por calor seco con el empleo del ensayo de lisado de amebocitos de limulus. *Revista Cubana de Farmacia*, 37(3).
- Perkins, J. J. (1969). Principles and methods of sterilization in health sciences. Michigan: Universidad de Michigan.
- Pluta, P. L. (2009). FDA 2008 Process Validation Draft Guidance. *The Journal of Validation Technology*, 15(1), Páginas 23-26.
- Prescott, W. H. (2004). *Microbiología* (Quinta ed.). Madrid: McGraw-Hill Interamericana.
- R. Ortiz, M., Puerto S., F. J., & Aceves P., P. E. (2008). La reglamentación del Ejercicio Farmacéutico en México. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 39(1), Páginas 12-19.
- Ransdell, T. E. (1996). The art and science of autoclave qualification. *Journal of Validation Technology*, 2(3).
- Roa, M. (2009). Validación de Procesos de Esterilización. México D.F.: Centro de Validaciones y calibraciones de México, S.A. de C.V.
- Sáez Ruiz, S. J. (Febrero de 2001). *Incertidumbre de la medición*. Maracay, Venezuela: L&S Consultores C.A.
- Sanchez Ruiz, J. F., Tejeda Rosales, M. E., Sanchez Tejeda, J. F., & Sanchez Tejeda, M. G. (2012). La farmacia, la medicina y la herbolaria en el código florentino. *Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas*, 43(3), Páginas 55-66.
- Schlegel, H. G. (1997). *Microbiología General* (Novena ed.). Barcelona: OMEGA.
- Secretaría de Salud. (1995). Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Método para la cuenta de bacterias aerobias en placa. México.
- Secretaría de Salud. (2001-2006). Memoria Documental "Aportes normativos en el ejercicio del derecho de la salud". México.
- Secretaría de Salud. (2010). Suplemento para establecimientos dedicados a la venta y suministros de medicamentos. *cuarta edición*. México.

- Secretaria de Salud. (2011). Método general de análisis 0501. Indicadores biológicos. *Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos, décima*. México.
- Secretaria de Salud. (2012). Reglamento de Insumos para la Salud. *Historia de la Farmacia*.
- Secretaria de Salud. (2013). Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2013, Buenas Prácticas de Fabricación de medicamentos. México.
- Secretaria de Salud. (2014). Ley General de Salud. *TITULO DECIMO SEGUNDO. Control Sanitario de Productos y Servicios de su Importación y Exportación. Artículo 195*. México.
- Service, U. D. (2008). Guidance for Industry. Process Validation: General Principles and Practices. Rockville.
- Spiegel, M. R. (1977). *Probabilidad y Estadística*. México: McGraw-Hill.
- STATPOINT Technologies, inc. (2010). Manual del usuario. STATGRAPHICS Centurion XVI. Estados Unidos de America.
- Suat Kumser. Pfizer İlaçları Ltd. Şti. (2002). Validation of Sterilization Equipments. Turquía, İstanbul Hilton.
- T.A. Brinley, C. D.-A. (2007). Feasibility of Utilizing Bioindicators for Testing Microbial Inactivation in Sweetpotato Purees Proceessed with a Continous-Flow Microwave System. *Journal of Food Science*, 72(5), Páginas 235-242.
- U.S. Pharmacopeial Convention. (2013). <1035> *Biological Indicators for Sterilization. USP 36-NF 31*. Estados Unidos de América.
- U.S. Pharmacopeial Convention. (2013). <1209> *Sterilization Chemical and Psychochemical indicators and integrators. USP 36-NF31*. Estados Unidos de América.
- Uribe Zaldivar, S. E. (Octubre de 2011). El ABC en la calificación de equipos y áreas farmacéuticas. Terra Farma S.A. de C.V. Toluca, México.
- Vallejo, P. M. (2011). Análisis de varianza para muestras independientes. Madrid.
- Vega Cruz, V. (2008). Función del profesional Farmacéutico como auxiliar de farmacia dentro de un establecimiento dedicado a la venta y suministro de medicamentos e insumos para la salud. México: Universidad Nacional Autónoma de México.
- WHO. (2007). Quality assurance of pharmaceutical. *Good Manufacturing practice and inspection*, 2, Páginas 27-39. Ginebra, Suiza.
- Zeigler, D. R. (2001). The Genus *Geobacillus*. 3. Ohio.

CAPÍTULO 11. GLOSARIO

Ajuste: Es la disminución, cuando es posible, de los errores encontrados en la calibración de un instrumento determinado.

Calibración: Es la determinación de los errores en la medición de un instrumento determinado comparándolo contra un instrumento, equipo o material de referencia de exactitud mayor con errores conocidos.

Incertidumbre: Parámetro asociado con el resultado de una medición que caracteriza la dispersión de los valores que pudieran ser razonablemente atribuidos al mesurado.

Medición: La medición es una técnica por medio de la cual asignamos un número a una propiedad física, como resultado de una comparación de dicha propiedad con otra similar tomada como patrón, la cual se ha adoptado como unidad. El acto de determinar el valor de una magnitud.

Sistema Crítico: Aquellos que tienen impacto directo en los procesos o productos.

ANEXOS

ANEXO 1. Certificado del indicador biológico



BIOLOGICAL INDICATOR

CERTIFICATE OF ANALYSIS

Reorder No: EZS/6

Geobacillus stearothermophilus 7953⁽¹⁾

Biological Indicator for: Steam Sterilization.

Culture: EZTest Media, 55 – 60°C. The supplied bacteriological medium will meet requirements for growth promoting ability.

Purity: No evidence of contaminants using standard plate count techniques.

Lot No: S-425

Manufacture Date: 2011 SEPTEMBER 30

Expiration Date: 24 months from Manufacture Date.

Heat Shocked Population: 2.5×10^6 Spores / Unit

Carrier size: $\frac{1}{4}'' \times \frac{3}{4}''$ (6 mm x 19 mm)

Assayed Resistance:	D-Value ⁽²⁾	Survival	Kill	
Steam 121°C	1.7	7.61 ⁽³⁾	17.99 ⁽³⁾	min
Steam 132°C	0.6	2.0 ⁽⁴⁾	5.5 ⁽⁴⁾	min
Steam 134°C	0.5	2.0 ⁽⁴⁾	5.5 ⁽⁴⁾	min
Steam 135°C	0.4	1.5 ⁽⁴⁾	4.5 ⁽⁴⁾	min

Z-value: 17.9°C

D-value reproducible only when exposed in an AAMI BIER vessel and cultured under the exact conditions used to obtain results reported here. MPN method used.

Units are manufactured in compliance with SGM Biotech's quality standards, USP, and ISO 11138 guidelines and all appropriate subsections.

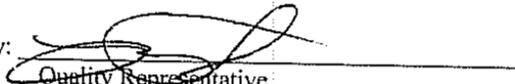
⁽¹⁾ Culture is traceable to a recognized culture collection identified in USP and ISO 11138.

⁽²⁾ D-value calculated using the Limited-Holcomb-Spearman-Karber method.

⁽³⁾ Survival/Kill values are calculated according to a formula in USP and ISO 11138. SGM uses a D-value rounded to four decimal places in this calculation.

⁽⁴⁾ Empirically derived data.

Certified By:


Quality Representative

Complete Quality Control testing results available upon request.

SGM BIOTECH
10 Evergreen Drive
Bozeman, MT 59715
406-585-9535
www.sgmbiotech.com

ANEXO 2. Cálculo de rangos

Tabla de datos para cálculo de rangos de termopares del estudio de distribución en cámara vacía

Termopar	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Subgrupo	1	0.9	2.0	1.9	0.3	0.9	1.8	0.5	2.3	1.1	2.9	2.3	2.7	0.3	2.4	1.8	3.6	3.8	0.3
	2	0.4	0.5	0.4	0.6	0.4	0.3	0.2	0.2	0.5	0.4	0.2	0.3	0.6	0.5	0.4	0.6	0.7	0.1
	3	0.6	0.3	0.8	0.1	0.4	0.3	0.3	0.3	0.2	0.3	0.2	0.4	0.6	0.3	0.3	0.5	0.5	0.3
	4	0.3	0.3	0.6	0.1	0.4	0.3	0.3	0.3	0.1	0.3	0.3	0.3	0.5	0.2	0.1	0.1	0.2	0.5
	5	0.2	0.1	0.1	0.0	0.1	0.1	0.2	0.2	0.8	0.1	0.1	0.2	0.1	0.1	0.1	0.2	0.1	0.5
	6	0.2	0.0	0.2	0.0	0.3	0.2	0.2	0.2	0.2	0.1	0.1	0.3	0.2	0.1	0.0	0.0	0.1	0.4
	7	0.4	0.5	0.5	0.1	0.5	0.4	0.4	0.4	0.4	0.2	0.1	0.3	0.2	0.2	0.0	0.1	0.3	0.2
	8	1.1	1.0	0.8	0.2	0.6	0.4	0.5	0.4	0.1	0.3	0.2	0.2	0.8	0.4	0.2	0.5	0.7	0.0
	9	0.6	0.5	0.4	0.2	0.4	0.3	0.4	0.3	0.1	0.3	0.2	0.6	0.4	0.3	0.3	0.5	0.5	0.2
	10	0.9	0.8	0.9	0.1	0.9	0.6	0.8	0.7	0.3	0.5	0.4	0.8	0.4	0.3	0.1	0.3	0.5	0.3

Tabla para carta de control de rangos de uniformes para área aséptica

Termopar	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Subgrupo	1	7.4	3.0	3.2	2.4	7.7	6.9	3.5	3.3	5.9	4.7	5.2	5.7	2.4	1.7	4.8	3.3	5.2	3.5
	2	4.1	2.0	1.9	1.7	4.2	3.0	1.7	1.9	2.4	2.5	2.3	2.6	1.6	2.6	2.2	1.4	1.2	1.9
	3	2.5	1.4	1.2	1.3	1.8	1.3	1.3	1.1	1.3	1.1	1.4	1.3	1.3	0.9	1.2	1.0	0.8	1.0
	4	1.7	0.9	1.1	0.9	0.7	0.7	1.0	0.7	0.8	0.9	1.1	1.0	1.0	0.9	1.0	0.9	1.1	1.0
	5	1.5	0.9	0.8	1.0	1.0	0.8	1.1	0.8	1.1	1.0	1.4	1.2	1.1	0.8	1.0	0.8	0.7	1.0
	6	1.2	0.9	0.7	0.9	0.9	0.8	1.1	1.0	1.2	1.0	1.4	1.2	1.3	1.0	1.1	0.9	1.0	1.1
	7	1.2	0.9	0.7	0.9	0.7	0.8	1.1	1.1	0.9	1.0	1.1	1.0	0.9	0.8	0.9	0.8	0.8	1.0
	8	1.3	1.0	0.9	1.1	1.0	0.8	0.9	1.1	1.0	1.0	0.9	0.9	1.0	0.9	0.8	0.8	0.9	0.9
	9	1.1	0.8	0.8	0.9	0.8	0.7	0.8	0.8	0.9	0.7	1.0	1.1	1.1	0.9	1.0	0.8	0.7	0.9
	10	1.1	0.8	0.9	0.9	0.8	0.8	1.0	1.1	1.0	1.1	1.1	1.0	1.0	1.1	1.0	1.0	1.1	1.2

Tabla para carta de control de Rangos de equipo de llenado

Termopar	01	02	03	04	05	06	07	08	09	10	11	12	13	14	15	16	17	18	
Subgrupo	1	1.2	1.3	1.3	1.4	1.3	1.4	1.5	1.5	2.5	2.1	2.1	2.3	1.4	1.7	12.7	6.7	3.1	4.0
	2	0.9	0.9	1.0	1.0	0.9	1.0	1.1	1.2	1.6	1.4	1.4	1.4	0.9	1.0	7.4	5.0	3.2	4.1
	3	1.0	0.9	1.0	1.0	0.8	1.1	1.1	1.0	1.2	1.2	1.2	1.3	0.9	1.0	5.7	2.7	2.0	3.4
	4	0.6	0.6	0.7	0.7	0.6	0.7	1.1	0.9	1.0	1.0	0.9	0.9	0.9	0.6	4.2	1.4	1.3	2.2
	5	0.8	0.9	0.8	0.8	0.7	0.7	0.9	0.8	0.8	0.9	0.7	0.9	0.7	0.7	2.5	0.7	0.7	1.0
	6	0.8	0.9	0.8	0.8	0.7	0.7	0.9	0.8	0.8	0.9	0.7	0.9	0.7	0.7	2.5	0.7	0.7	1.0
	7	0.8	0.8	0.9	0.8	0.7	0.7	0.9	0.8	0.8	0.7	0.7	0.8	0.7	0.8	1.6	0.6	0.7	0.8
	8	0.8	0.8	0.9	0.8	0.7	0.7	0.9	0.7	0.7	0.6	0.6	0.6	0.7	0.6	1.3	0.6	0.7	0.9
	9	0.7	0.7	0.8	0.7	0.7	0.7	0.9	0.8	0.6	0.5	0.5	0.6	0.5	0.7	0.7	0.6	0.5	0.6
	10	0.7	0.7	0.6	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5	0.6	0.6	0.7	0.7	0.6	0.7	0.9	0.7	0.6	0.8

ANEXO 3. Ejemplo de impresión del registro de temperatura y presión del autoclave

Nro. de serie:080829

CICLO:TEXTILES
 PRODUCTO:DESEMPENO
 LOTE:HA
 OPERADOR:VALIDACION
 Contador de Ciclos:0817

Temperatura de Esterilizado: 121 °C
 Tiempo de Esterilizado: 15 min.
 Control por Tiempo
 Pulsos de Vacío: 3
 Sonda en Cámara
 Descarga Rápida
 Esterilización Filtro NO
 Seguro de apertura de Puerta NO
 Test de Ampollas NO
 Tiempo de Secado: 45 min.
 Nivel de Vacío: -760 mbar
 Nivel de Vapor: 900 mbar

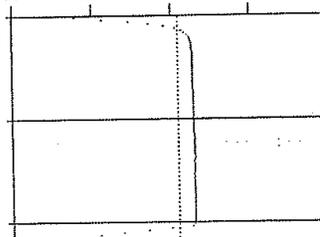
15:19:39 INICIO DE CICLO

PULSOS DE VACIO
 15:20:42 -0.761 Bar VACIO # 1
 15:22:18 0.908 Bar VAPOR # 1
 15:24:18 -0.764 Bar VACIO # 2
 15:25:35 0.910 Bar VAPOR # 2
 15:27:38 -0.762 Bar VACIO # 3
 15:28:42 0.902 Bar VAPOR # 3

ESTERILIZADO
 PRECALENTAMIENTO
 P.Cam T.Sonda T.Aux
 (Bar) (°C) (°C)

Time	P.Cam (Bar)	T.Sonda (°C)	T.Aux (°C)
15:29:10			
ALARMA OFF: VAPOR PURO			
INICIO CONTEO TIEMPO DE ESTERILIZADO			
15:29:38	1.205	121.2	121.3
15:30:38	1.219	122.5	122.8
15:31:39	1.269	122.8	123.0
15:32:39	1.260	122.8	123.0
15:33:39	1.205	122.8	123.0
15:34:39	1.243	122.9	123.1
15:35:39	1.227	122.9	123.0
15:36:39	1.221	122.9	123.1
15:37:39	1.223	123.0	123.1
15:38:39	1.243	123.0	123.1
15:39:39	1.247	123.0	123.1
15:40:39	1.247	123.0	123.1
15:41:40	1.211	123.0	123.1
15:42:40	1.260	123.0	123.1
15:43:40	1.240	123.0	123.1
15:44:40	1.273	122.9	123.0

DESCARGA RAPIDA
 100 110 120 130 140 °C



1x8 (min.)

15:46:06 -0.194 Bar
 SECADO
 INICIO CONTEO TIEMPO DE SECADO
 15:47:11 -0.760 Bar
 FIN CONTEO TIEMPO DE SECADO
 16:32:11 -0.937 Bar
 AIREACION

16:34:03 FIN DE CICLO
 PRESSION DE CAMARA: -0.296 Bar
 TIEMPO TOTAL DEL CICLO: 1h 14m 24s