

**METODOS DE VALIDACION PARA PRUEBAS  
DE ESTERILIDAD**

**T E S I S**

**QUE PARA OBTENER EL TITULO DE:  
LICENCIADA EN  
QUIMICA FARMACEUTICA BIOLOGA  
PRESENTA:**

**GLADYS LOYO AROSTEGUI**

**DIRECTOR DE TESIS:  
Q. F. B. SANTIAGO SALAZAR LOPEZ**

290562



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

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

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

A mis Padres:  
Con testimonio eterno a sus sacrificios  
Quienes con apoyo y su cariño me  
otorgaron la mejor de las herencias:  
Mi Profesión.

A mis queridos hermanos:  
Magdalena, José Luis, Sarita y Verónica

A mis adorables hijos:  
Jorge Alexandro, Sergio, Mario Francisco,  
Miguel Angel y Cristina.

Con especial cariño, a mis sobrinos:  
Luis Antonio, Alina, Verónica y Gonzalo.

Con cariño y respeto:  
A mi cuñado Gonzalo  
A la Familia Sánchez Robles.

Con todo mi agradecimiento  
Ing. Gildardo Villareal  
Jefe Dpto. Exámenes DGIRE.

Con especial aprecio al:  
Q.F.B. Santiago Salazar López

Al personal Administrativo de la  
Universidad Del Valle de México,  
Campus Chapultepec, por todo el apoyo  
que me brindaron.

## INDICE

I. OBJETIVO.....	1
II. INTRODUCCIÓN.....	2
III. GENERALIDADES .....	3
1. Limpieza Del Material Analítico.....	4
2. Validación Para Filtros Asépticos.....	4
3. Sistemas De Generación De Agua Calidad Inyectable.....	5
4. Manufactura Para Cuartos Limpios.....	6
5. Métodos De Esterilización.....	10
6. Objetivo De Ensayo De Esterilidad.....	17
IV. PARTE EXPERIMENTAL.....	20
1. Método de Validación del proceso de esterilización con calor seco.....	21
2. Métodos de Validación de las Autoclaves.....	23
3. Métodos de Validación del Área Estéril.....	26
4. Validación de Sistemas Críticos.....	28
V. PROCEDIMIENTOS DE VALIDACION.....	35
1. Autoclave.....	28
2. Hornos.....	29
3. Área Estéril.....	29
4. Discusión de la Parte Experimental.....	29
5. Resultados.....	31
6. Discusión.....	35
7. Conclusión.....	36
VI. LEGISLACION FARMACEUTICA.....	44
VII. ANEXOS.....	47
VIII. CONCLUSION.....	58
IX. BIBLIOGRAFIA.....	59

## **L. OBJETIVO**

**Demostrar que la Esterilidad de los Productos Farmacéuticos y los Métodos de Validación estén dentro de las Normas establecidas.**

**Demostrar que el Cuarto Limpio es parte integral para la preparación de Productos Estériles, y su estricto control de material particulado este dentro de lo establecido.**

**Demostrar que el medio filtrante aséptico no introduce materia extraña, ni es atacado por el fluido que circula a través de él, ni es capaz de retener microorganismos.**

**Aprender los principios técnicos fundamentales para llevar a cabo la validación del “Sistema Crítico” Agua para Uso Farmacéutico, Aire, y ..Aire comprimido.**

**Demostrar que el sistema producirá efectiva y consistentemente agua de la calidad especificada (química y microbiológica) cuando es operado de acuerdo al procedimiento estándar de operación.**

**Demostrar que tanto su generación así como su manejo es confiable, efectivo y reproducible y no representa una fuente de contaminación, química o microbiológica para el agua generada.**

**Asegurar que el equipo y el diseño de los sistemas involucrados puedan operar consistentemente dentro de los límites preestablecidos.**

## II. INTRODUCCIÓN

En la actualidad la Industria Farmacéutica ocupa un lugar preponderante en la vida económica de México, prepara una serie muy amplia de medicamentos y, dentro de estos, los productos parenterales representan una parte muy importante.

Se debe dejar asentado que un producto parenteral dentro de toda gama de requisitos que debe cumplir, tiene uno primordial que es : LA ESTERILIDAD, y es responsabilidad de todos aquellos que de alguna u otra manera se dedican a salvaguardar la salud pública, de garantizar que estos productos cumplan con el requisito antes citado. Para ello, se puede auxiliar de una serie de materiales y procedimientos, entre los cuáles se tiene lo que se conoce como "VALIDACION DE EQUIPOS.

Cuando se realizan las pruebas de esterilidad, se corre el riesgo de tener resultados falsos positivos, por lo tanto, es necesario tener testigos tanto positivos como negativos para garantizar la esterilidad del método ; y es fundamental validar el autoclave de este departamento para verificar el desarrollo de dichos testigos.

Para esterilizar un objeto o un producto, deben eliminarse los microorganismos presentes, por ejemplo, por filtración esterilizante o pueden ser destruidos por agentes Físicos o químicos, por ejemplo, temperatura, irradiación o gasificación. Estos procesos se agrupan generalmente bajo el concepto de ESTERILIZACION.

Para controlar la esterilización se utilizan parámetros físicos y químicos como presión, temperatura, humedad, concentración de los agentes, tiempo, puntos de fusión y de viraje. Estos parámetros posibilitan ciertamente un dictamen cuantitativo sobre las condiciones durante el proceso de esterilización, sin embargo, permiten sólo una conclusión final indirecta sobre la esterilidad esperada.

Al contrario del Control de Esterilización, en el examen de esterilidad se controla la eficacia de los agentes de esterilización ; se trata de un método de comprobación directa.

La comprobación directa de la esterilización puede realizarse examinando una parte representativa del material a esterilizar con las pruebas de esterilidad habituales, en las que el grado de contaminación del material a esterilizar antes de la esterilización y la termoresistencia de los gérmenes contaminantes queden generalmente sin ser considerados o utilizando los bioindicadores.

La Esterilización es un proceso biológico y por lo tanto, debe ser controlada directamente mediante un sistema biológico. Un bioindicador posibilita un análisis de la cinética del proceso de destrucción y abarca el margen de seguridad.

El bioindicador representa actualmente la forma más segura y sencilla del control de esterilización. Cuando hay que demostrar que un proceso de esterilización es adecuado para destruir la mayor población de microorganismos resistentes con la que puede estar contaminado el material a esterilizar, debería utilizarse siempre bioindicadores.

Espero que el presente trabajo sirva a alguien como guía en cuanto a los Métodos de Validación en el proceso de inyectables y pruebas de esterilidad.

### III. GENERALIDADES

**ESTERILIZACIÓN** : es la destrucción o separación total de los microorganismos vivos y de sus formas de resistencia, que existen en los productos farmacéuticos ; en sus envases, taponés, etc., así como en aparatos, instrumentos y material para pruebas de laboratorio.

Cuando un objeto no contiene microbios vivos, se dice que está estéril, pero la esterilidad sólo se puede mantener mientras se tengan las necesarias precauciones para evitar el contacto con el aire atmosférico u otros medios que puedan transportar microorganismos y depositarlos sobre el objeto.

Es necesario recordar los siguientes hechos :

- A. Casi en todas partes se hallan bacterias y otras clases de microorganismos.
- B. La mayor parte de estos se multiplican rápidamente a temperaturas que varían entre 20 y 40 °C siempre que haya cierto grado de humedad y las sustancias necesarias de que se nutren.
- C. Las temperaturas menores de 8 °C sólo retardan la reproducción de los microorganismos.
- D. Todo agente que mata las esporas bacterianas, destruye cualquier forma de vida.

**VALIDACIÓN** : Es la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones y los atributos de calidad establecidos.

Se entiende por **MÉTODOS DE VALIDACION** a las pruebas realizadas para comprobar la acción bactericida de los métodos de esterilización, por medio de indicadores biológicos.

Esto consiste en poder garantizar que todo el equipo (autoclave, horno, área estéril, y equipo empleado en las pruebas de esterilidad) reúnan los requisitos de presión, temperatura, tiempo, etc. a fin de poder garantizar que cada uno de ellos cumplió su objetivo.

Para poder realizar dicha validación de equipos, es fundamental que quién intente hacer ésta operación, debe conocer perfectamente los procesos y el equipo, con el objeto de conocer cuales son los factores a controlar, a manera de ejemplo, se tiene lo siguiente :

- a) En el autoclave se controla la presión, la temperatura y el tiempo ; para lo cual se usa un manómetro para regular la presión, un termómetro que registra la temperatura, un reloj de 0 a 90 minutos para poner el tiempo establecido y un graficador de presión y tiempo.
- b) En los hornos se controla con un termómetro la temperatura y un reloj para el tiempo.

Al mismo tiempo para garantizar la validación de autoclaves y hornos, juntamente se pueden hacer uso de los indicadores biológicos o productos químicos.

Para la validación del material y el personal en el área estéril, se usan controles, tales como muestreo del aire ambiental, exponiendo placas de agar ; y para los lugares de difícil acceso (hoyos, quebraduras, etc.) se toman muestras con hisopos que se siembran en caldo de Trypticaseína estéril.

## 1. LIMPIEZA DEL MATERIAL ANALITICO.

La limpieza del material utilizado en la metodología analítica ha sido siempre motivo de gran inquietud por la importancia que tiene para la confiabilidad y exactitud de los resultados obtenidos en los análisis.

Se puede definir como material limpio aquel que, al usarse en la metodología analítica, no libera sustancias, partículas o microorganismos que puedan alterar los resultados analíticos.

Es responsabilidad de los analistas el tratar el material previamente a su entrega al personal de limpieza. Esto comprende, entre otros pasos, la neutralización de residuos, la separación de disolventes y los tratamientos especiales para los residuos cuando éstos puedan tener características que los hagan tóxicos o peligrosos (residuos microbiológicos, sales de mercurio, residuos de metales alcalinos, cianuros, etc.).

Es responsabilidad de los analistas cerciorarse de la calidad de capacitación que se haya impartido al personal de limpieza. En caso de que considere que dicha capacitación es incompleta o defectuosa, sobre todo en materia de seguridad, el analista deberá preocuparse por mejorarla para cumplir con todos los requisitos que considere necesarios.

Es responsabilidad de los analistas cumplir con las normas oficiales respecto a la eliminación de residuos, solventes, etc. (en México, las de la Secretaría de Desarrollo Urbano y Ecología)(SEDUE).

## 2. VALIDACIÓN PARA FILTROS ASÉPTICOS.

La filtración aséptica en la actualidad es un proceso crítico que ha requerido la atención de los expertos en la materia en los últimos tiempos dada su apreciable complejidad.

La validación de los filtros asépticos tiene como objetivo :

- \* Demostrar que el medio filtrante no introduce materia extraña al servicio en el cual servirá el filtro.
- \* Demostrar que el medio filtrante aséptico no es atacado por el fluido que circula a través de él, de manera que afecte su integridad o su capacidad de retención.
- \* Demostrar que el medio filtrante aséptico es capaz de retener microorganismos en cantidades tales que excedan el "caso crítico" de carga biológica en la corriente de proceso o servicio donde se haya instalado el filtro, según aplique ( tipo de filtro, porosidad usada, etc.)

### 3. VALIDACION PARA EL SISTEMA DE GENERACIÓN DE AGUA INYECTABLE

La validación de agua inyectable, tiene como objetivo demostrar que el sistema producirá efectiva y consistente agua de la calidad especificada (química y microbiológica) cuando es operado de acuerdo al procedimiento estándar de operación escrito y vigente.

Demostrar que tanto su generación así como su manejo es confiable, efectivo y reproducible y no representa una fuente de contaminación química o microbiológica para el agua generada.

#### PROCEDIMIENTO :

- ◊ Una vez que el sistema ha iniciado su operación y se ha obtenido la primera cantidad de agua por destilación en cada punto de uso, tomar una muestra para análisis tanto químico como microbiológico, de acuerdo al programa de muestreo para validación y el procedimiento estándar de operación.
- ◊ Analizar las muestras todas, de acuerdo a los procedimientos estándar de operación para análisis del parámetro a evaluar, de Garantía de la Calidad.
- ◊ Para demostrar que el sistema es confiable, efectivo y reproducible, se deberán tomar tres juegos de muestras para garantizar consistencia de los resultados.

#### CRITERIOS DE ACEPTACIÓN :

- ◆ La calidad química del agua deberá ser como se indica en la Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos (FEUM).
- ◆ La calidad microbiológica del agua deberá ser como sigue :  
 Pirógenos : menor de 0.25 EU / ml  
 Cuenta Microbiana : Menor de 0.1 M.O / mL (10 UFC/ 100 ml) menor de 1 UFC/ 100 ml (en el punto de uso).
- ◆ Los límites de acción para la calidad del agua se establecerán de acuerdo a las necesidades del usuario.

#### PROGRAMA DE MUESTREO DE AGUA POR SECCIÓN DEL SISTEMA GENERAL

- \* Equipo de destilación.
- \* Tanque de almacenamiento.
- \* Red de distribución.

Tabla 1

#### 4. . MANUFACTURA PARA CUARTOS LIMPIOS

El cuarto limpio es parte integral del Bloque para la preparación de Productos Estériles y pueden definirse como una zona delimitada por paredes, techo, piso y accesos en la cual se tiene un estricto control sobre la cantidad de material particulado (microbiológico o no) presente, así como de las condiciones de temperatura, humedad relativa y sobrepresión, requeridos para los procesos que en él se lleven a cabo.

En forma restringida, el Bloque se define como un conjunto de zonas de una planta farmacéutica destinado a la preparación y envases de medicamentos que deben suministrarse al paciente en forma estéril y que no pueden ser esterilizados en sus envases primarios finales. En forma ampliada, esta definición comprende también la preparación y envases tanto de aquellos cuya esterilidad debe conservarse hasta antes de su administración.

#### REQUISITOS DE OPERACIÓN EN EL CUARTO LIMPIO

- ◊ **PREPARACIÓN** :El personal no deberá trabajar en el Cuarto sin haber recibido previamente una capacitación adecuada de las operaciones que deba efectuar : como vestir el uniforme, como debe moverse, como actuar en casos de emergencia, cual es su responsabilidad, etc., El adiestramiento del personal deberá ser impartido por personas capacitadas para ello.
- ◊ **SALUD** : Sólo podrá operar en el Cuarto limpio, personal que goce de completa salud. Para comprobar su estado de salud deberá ser sometido a exámenes médicos que así lo certifiquen.
- ◊ **UNIFORMES** : El personal deberá utilizar uniformes esterilizados consistentes en overol completo ajustado hasta los tobillos y las muñecas y cerrado al frente con una cremallera o dispositivo similar, pero no botones. Se usará también una escafandra o capucha que cubra toda la cabeza y cuya parte inferior penetrará debajo del overol, así como cubre-calzado que se ajustará adecuadamente a la altura del tobillo, por encima del pantalón. Son variados los materiales que pueden utilizarse para confeccionar los uniformes, pero se prefieren los que no liberen partículas. Adicionalmente, el personal utilizará guantes de cirujano y cubre-boca desechables estériles. Cuando el proceso así lo amerite, empleará un visor de seguridad.

El uniforme deberá ser esterilizado antes de ser usado por el personal y deberá ser repuesto por otro sin utilizar y estéril, si el personal abandona temporalmente el Cuarto y regresa de nuevo al mismo.

- ◊ **VESTIDO DEL UNIFORME DEL CUARTO LIMPIO** : Deberá existir un manual con la rutina para vestir el uniforme del Cuarto Limpio.

Se utilizará un cubículo anexo al Cuarto limpio que sirva como vestidor para el cambio del uniforme normal de trabajo por el uniforme del Cuarto Limpio.

Esta operación deberá realizarse teniendo extremo cuidado de no contaminar el uniforme estéril. Previo a esta operación, el personal deberá haber eliminado cualquier cosmético facial, así como el esmalte de uñas, de la misma manera se retirarán todas las alhajas. El personal deberá usar las uñas recortadas a fin de no perforar los guantes y seguir el procedimiento quirúrgico de lavado de manos y antebrazos antes de proceder a vestir el uniforme del Cuarto Limpio.

#### ◇ FLUJO DE PERSONAL

El personal que opera en el Cuarto Limpio se desplazará del vestidor general del Laboratorio al vestidor del Cuarto Limpio en donde entrará a través de un paso con doble puerta, procediendo después a colocarse el uniforme conforme a los procedimientos adecuados establecidos antes de entrar al Cuarto Limpio. Una vez terminada su labor, regresará al Laboratorio a través del vestidor del Cuarto Limpio, en donde dejará los uniformes, botas, cofias usados en forma tal que se evite la diseminación de contaminantes, especialmente si se han llenado polvos.

El flujo del personal dentro del Cuarto Limpio deberá ser dispuesto en forma tal que se tenga que hacer el mínimo de desplazamientos, evitando el cruce con el flujo de materiales y con el flujo de los demás operarios que trabajan en la zona.

#### ◇ FLUJO DE MATERIALES

Los materiales que ingresan al Cuarto Limpio serán sólo aquellos que sirvan para efectuar el proceso del producto farmacéutico; de esta manera se pueden encontrar distintos tipos de materiales y cada uno de ellos recibirá un tratamiento específico antes de su ingreso al Cuarto Limpio.

##### • ENVASES PRIMARIOS :

El flujo sugerido a seguir con estos materiales es el siguiente: desempaque, lavado y esterilización. En el caso de materiales que así lo requieran, se les dará un tratamiento de despirogenización.

Siendo la esterilización el último paso antes de entrar al Cuarto Limpio, se recomienda que el ingreso de envases primarios esterilizados al Cuarto Limpio sea a través de hornos y/o autoclaves dotados con doble puerta.

Alternativamente, podrán usarse pasos de materiales. En uno y otro caso el material estéril se introducirá en el área en cajas esterilizadas de acero inoxidable o de otro material adecuado. Los recipientes no se abrirán, sino hasta el momento de uso, dándoles un período máximo de espera de 48 a 72 hrs., transcurrido el cual, si no han sido abiertos, deberán ser esterilizados nuevamente.

Los contenedores de plástico serán lavados, colocados en un envase adecuado y posteriormente serán esterilizados con óxido de etileno u otro gas esterilizante y seguirán el mismo flujo indicado para los demás envases primarios.

Rutinas similares se seguirán en caso de esterilización de envases o tapas por fumigación. Los materiales esterilizados fuera del Laboratorio (rayos gama, etc.) seguirán el procedimiento que abajo se indica para la introducción de sólidos estériles a granel al Cuarto Limpio.

Es importante hacer notar que no es permisible la presencia de contenedores de cartón o materiales similares dentro del Cuarto Limpio debido primordialmente a la gran cantidad de partículas que estos materiales puedan dejar escapar al ambiente aséptico.

- PRODUCTOS A GRANEL

El producto a granel puede ser introducido a las zonas de operación utilizando diversas vías, dependiendo del tipo de producto que se pretenda procesar, pero estará siempre convenientemente identificado.

Los materiales sólidos estériles a granel deberán introducirse al Cuarto Limpio a través de un paso de materiales cerciorándose previamente que el exterior del contenedor haya sido limpiado, desinfectado y sometido a sanitización adecuada.

En el caso de un líquido, éste deberá ser filtrado en condiciones de esterilidad y la parte distal del filtro terminará dentro del Cuarto Limpio, ya sea en un recipiente estéril para graneles o bien en el sistema de llenado de la máquina utilizada.

Alternativamente podrá recibirse en un recipiente para graneles e introducirse al Cuarto Limpio con el procedimiento indicado para materiales sólidos estériles a granel. Estos líquidos pueden, de acuerdo a su naturaleza, recibir una esterilización terminal o bien finalizar su proceso en el momento de efectuar el llenado y cerrado del contenedor.

- PRODUCTO TERMINADO

El producto terminado será identificado de inmediato y deberá abandonar el Cuarto Limpio más rápidamente posible, a fin de evitar acumulaciones innecesarias de material dentro de las zonas de trabajo.

- SANITIZACIÓN

La adecuada Sanitización de las áreas debe ser realizada de tal manera que proteja debidamente todas las superficies del Cuarto Limpio, as superficies externas de los equipos y de todo aquel material de trabajo normal que se encuentre dentro del área. La sanitización va enfocada prioritariamente al ataque de los posibles microorganismos que puedan encontrarse depositados o adheridos a las partes anteriormente enunciadas.

-USO DE SANITIZANTES

Para el adecuado funcionamiento operativo de un Cuarto Limpio, e independientemente del mantenimiento de las condiciones establecidas, es necesario realizar sanitizaciones periódicas que coadyuven a preservar las condiciones asépticas en las cuales se operan los diversos procesos estériles.

- CICLADO DE SANITIZACIÓN :

La sanitización se realizará utilizando agentes químicos de diverso origen, pero que tengan siempre un poder bactericida demostrado. Dado que muchos microorganismos pueden crear resistencias al ataque de estos agentes químicos, es recomendable el ciclado de los mismos. Este ciclado usará alternadamente agentes químicos que utilicen radicales químicos distintos para ejercer su acción, ya que esto dificulta la aparición de microorganismos resistentes.

- REGISTRO :

Es necesario llevar una bitácora que documente tanto el ciclado de los agentes sanitizantes como la periodicidad con que se realiza este procedimiento. Este registro será útil en la detección de las fuentes de contaminación, así como en la identificación de los microorganismos que se puedan encontrar con mayor frecuencia.

Muchos de los agentes sanitizantes comunes se presentan en forma líquida, por lo que se pueden aplicar por vaporización o por frotamiento. Si éste es el caso, se tendrá especial cuidado que las telas con que éstos se apliquen no liberen partículas que puedan contaminar el medio ambiente.

- **EVALUACIÓN RUTINARIA EN EL CUARTO LIMPIO**

1. Evaluación de Esterilidad y Sanitización :

Esta puede efectuarse de preferencia empleando dos o más de los siguientes métodos :

- a) Exposición periódica de cajas petri conteniendo medios de cultivo específicos para bacterias y hongos. Esta prueba es muy útil en la interpretación de las pruebas de esterilidad.
- b) Muestreo del aire mediante equipo mecánico que permita determinar la contaminación en función del volumen de aire muestreado.
- c) Muestreo de paredes. Techos y pisos mediante hisopos estériles humedecidos que posteriormente se someten a incubación.

2. Cuenta de partículas presentes en el área :

Esta se efectúa empleando equipo electrónico capaz de discriminar la contaminación en función del volumen de aire muestreado, y es útil para determinar si se cumplen los requisitos relativos a la clase de aire correspondiente a la zona muestreada.

3. Medición de estancidad de sellos en filtros terminales, filtros de campanas o módulos, mediante la utilización de equipo generador de soles de D.O.P. y fotómetros adecuados.
4. Medición de la velocidad de aire utilizando anemómetros para verificar los volúmenes de aire que entran al cuarto y a las velocidades en el equipo de flujo laminar.
5. Verificación de las sobrepresiones existentes entre el cuarto y las demás zonas del Bloque mediante el empleo del manómetro de presión diferencial.
6. Verificación de valores porcentuales de humedad relativa empleando higrómetros adecuados.
7. Verificación de temperatura.

Estas operaciones de evaluación deberán efectuarse a intervalos que garanticen el correcto funcionamiento de los sistemas del Cuarto Limpio, debiéndose conservar un registro de cada una de ellas.

## 5. METODOS DE ESTERILIZACION.

El método para obtener la esterilidad está determinado principalmente por la naturaleza del producto. La preparación de productos estériles requiere un conocimiento íntimo del equipo que se emplea y de la estabilidad del producto que se procesa. El proceso requiere una supervisión del equipo y del procedimiento por personal bien entrenado en idear y aplicar métodos para lograr la esterilidad, además de pruebas adecuadas de la eficacia de las técnicas usadas.

Al seleccionar un proceso de esterilización para un producto dado, se toman en cuenta sus características físicas y químicas, las condiciones de su fabricación y su estabilidad respecto al método escogido.

El proceso de esterilización seleccionado, requiere no sólo la supervisión del equipo y de los procedimientos empleados por personal bien entrenado, sino también la comprobación de su efectividad, por medio de pruebas capaces de revelar la presencia de organismos vivos, de lento crecimiento que incluyen el uso de diversos medios de cultivo, la observación periódica durante cierto tiempo y en algunos casos, el empleo de indicadores biológicos como por ejemplo, cuando se utiliza el método de vapor bajo presión (15Lbs/pulg.<sup>2</sup>), empleando una temperatura de 121°C.

Estas y otras pruebas apropiadas a la naturaleza del producto y a las condiciones de su manufactura, deben hacerse cada vez que haya un cambio en el proceso de esterilización.

Esta disposición no se aplica a los productos farmacéuticos radiactivos, pues debido a la rapidez con que decae su radiactividad, no es posible esperar el resultado de dichas pruebas. En tales casos, se permite dar el visto bueno para usarlos enseguida de haberlos esterilizado, ya que el fabricante debe tener la certeza que los métodos empleados en su manufactura y esterilización son los indicados para cada producto. Sin embargo, siempre se debe efectuar la prueba de validación de esterilidad para cada uno de los lotes, manufacturados, como evidencia complementaria que pruebe la efectividad de los métodos.

El procedimiento que se use para obtener una esterilización de un medicamento o preparación farmacéutica, estará de acuerdo con la naturaleza del producto. En general, los métodos de inactivar microorganismos pueden ser clasificados en físicos y químicos.

Los métodos de destrucción física incluyen : Calor Húmedo, Calor Seco y Radiación.

Los métodos químicos incluyen : el uso del gas líquido o esterilizantes.

La filtración estéril es considerada un proceso de esterilización física, que elimina pero no inactiva los microorganismos.

## a) ESTERILIZACIÓN POR CALOR HÚMEDO

Este método consiste en la aplicación de vapor de agua a 100 ° C por espacio de 30 minutos en tres días sucesivos, en los intervalos se conservan los artículos a la temperatura de incubación. A esto se le da el nombre de ESTERILIZACIÓN INTERMITENTE., FRACCIONADA, INTERRUMPIDA Y TINDALIZACION, sirve para esterilizar soluciones que no se descomponen a 100 ° C, pero no se debe emplear cuando se pueda efectuar la esterilización en el autoclave. En ciertos casos se puede realizar la esterilización con calor húmedo a 100 ° C en 30 minutos en un sólo periodo. En tales casos, para mayor seguridad conviene agregar a la solución, algún agente bacteriostático como la solución al 0.3% de cresol, al 0.5% de ácido fénico o al 0.5% de clorobutanol

- \* Deberá existir un procedimiento estándar de operación que indique los pasos a seguir para una operación de ciclo automático o manual.
- \* Deberá existir procedimiento que indique, a través de diagramas o fotografías, las cargas patrón, las condiciones de esterilización y el acomodo de los diferentes materiales dentro de la cámara.
- \* Deberá contarse con estudios de penetración de calor y determinación del Fo para diferentes modelos de carga.
- \* Los estudios anteriores deberán realizarse cada vez que se modifiquen las condiciones de operación del equipo (modificación de válvulas y tuberías, reparaciones).
- \* Deberán realizarse estudios para procesos en que pueda presentarse el peor caso.
- \* Todos los materiales deberán esterilizarse en un tiempo no mayor que el indicado en un procedimiento establecido.
- \* Todos los materiales deberán estar protegidos por envoltentes en los que se determine una permeabilidad al vapor en el interior de los recipientes o componentes, o que aseguren dicho contacto.
- \* Todos los materiales deberán contener un indicador fisicoquímico que asegure que se alcanzó la temperatura requerida.
- \* Se sugiere anexar a cada carga un bioindicador bioquímico y que se evalúe con una promoción de crecimiento positivo.
- \* Todos los materiales que se introduzcan al esterilizador deberán estar identificados con la fecha de esterilización, el nombre del operador y el destino.
- \* Deberá llevarse un registro de los materiales de una carga que se introduzca al esterilizador, los cuales se indicarán en el graficador del equipo.
- \* Al menos cada seis meses deberá realizarse una inspección visual de las condiciones de cámara, los filtros, las válvulas y las tuberías.
- \* Deberá llevarse un registro de las calibraciones de los instrumentos, indicando la causa y las condiciones de éstas, y quién las realizó.
- \* Deberá existir un mecanismo o un indicador luminoso que evite abrir las dos puertas al mismo tiempo.

## b). LLAMA DIRECTA.

Sirve para esterilizar un número reducido de artículos que se deterioran con el fuego ; por ejemplo, calentando en la llama del mechero Bunsen o de una lámpara de alcohol se puede esterilizar rápidamente agujas metálicas, alambres, espátulas, pinzas, etc., de igual manera se esterilizan en casos de urgencias las losetas para pomadas, los morteros, los orificios de filtros antibacterianos y otros artículos semejantes, con tal que no se aplique la llama por más de 20 segundos a cada parte que se desee esterilizar.

Aunque los vidrios de reloj, las varillas de vidrio, la boca de los tubos, pipetas y matraces se pueden esterilizar pasándolos por la llama, no se recomienda este método para esterilizar utensilios de vidrio en general, por el riesgo de que se rompan al calentarlos en la llama directa.

## c). FILTRACION ANTIBACTERIANA.

Consiste en la separación física de los microorganismos que contaminan ciertos productos farmacéuticos. Para efectuar la esterilización por este método, se pasan las soluciones por filtros que impiden el paso de las bacterias, de lo que resultan filtrados estériles, se utiliza para esterilizar las soluciones sensibles al calor. En toda la operación se requiere asepsia absoluta, y es preciso esterilizar antes todos los aparatos, utensilios, filtros, recipientes en que se recoge el filtrado, los envases definitivos y los tapones.

No es factible este procedimiento cuando las sustancias reaccionan con el material de que está hecho el filtro. Pude haber absorción de proteínas, alcaloides y otras sustancias por el filtro y quizás la carga eléctrica del filtro altere el líquido o la cantidad de sustancia que se va a filtrar exceda la capacidad del filtro para dar un filtrado estéril.

En consecuencia, es necesario hacer ensayos para obtener buenos resultados. Los filtros que se utilizan son de vidrio poroso o porcelana y no deben tener roturas o cuarteadas y antes de ser usados estarán limpios y esterilizados.

Su impermeabilidad debe ser comprobada con cultivos en caldo de bacterias apropiadas (B. Subtilis, E. Coli, etc.) que se filtran a través de ellos. Aunque la esterilización por medio de la filtración tiene sus ventajas, requiere cuidado y esmero extraordinario y como son muchos los peligros de contaminación para mayor seguridad conviene añadir algún agente bacteriostático al prepararlo.

- \* Deberá disponerse de un procedimiento estándar de desensamble, limpieza y ensamble.
- \* Deberá existir evidencia escrita de integridad de la membrana y de la fecha de caducidad del equipo estéril antes de su uso.
- \* Deberán realizarse estudios para determinar la preprueba y la posprueba de integridad de la membrana por producto, marca y tipo ; se hará lo mismo para cartuchos.
- \* Las conexiones deberán realizarse con técnicas asepticas y bajo modulo de flujo laminar para la esterilización de graneles por filtración.
- \* Antes de llevar a cabo la operación de filtración estéril se deberá verificar :
  - ◇ la limpieza
  - ◇ la ausencia de fugas
  - ◇ la limpieza de mangueras, las cuales deberán estar protegidas en sus exteriores.

- \* La limpieza de tuberías y esterilización en línea de filtros grado esterilizante deberán cumplir parámetros preestablecidos de tiempo, presión y temperatura de acuerdo a procedimientos establecidos.
- \* Deberá existir evidencia escrita de la integridad de los filtros de venteo.
- \* Deberá existir evidencia escrita de la integridad o la difusión de medios filtrantes de gases, con propósitos de preservación o reacción química.
- \* En la orden de producción deberá existir evidencia escrita de la cantidad filtrada y de las pruebas de integridad o de difusión, igual o por arriba de los valores mínimos indicados.
- \* La operación de filtración estéril deberá realizarse en una área limpia previamente sanitizada, la cual deberá mantenerse en las mismas condiciones.

#### d). VAPOR BAJO PRESIÓN.

Este proceso se realiza en autoclaves, empleando vapor saturado bajo presión. Se utiliza en la mayoría de los casos en que el producto o material resiste la humedad y la temperatura elevada.

La temperatura con la que se opera en autoclave es generalmente de 121°C, se mide con un termómetro situado en la línea de descarga de vapor del aparato y se verifica un registro permanente de la misma, en cada ciclo de esterilización. Antes de iniciar el proceso, el operador debe estar seguro que todo el aire ha sido desalojado de la cámara del autoclave por medio del vapor, para lo cual permitirá la salida del mismo a través de una válvula abierta, durante el tiempo que sea necesario, hasta que la corriente sea continua.

El tiempo de exposición varía con la naturaleza del producto, con el tamaño y el tipo de los envases que son tratados. Así por ejemplo, para una solución contenida en una ampolla de vidrio de paredes delgadas de 50 ml de capacidad, será suficiente una temperatura de 121°C durante 6 a 8 minutos; hasta 20 o más de exposición en el caso de una solución contenida en el recipiente de vidrio de paredes gruesas de 1000 ml de capacidad.

La distribución del calor se comprueba colocando dispositivos apropiados que registran las temperaturas en los diferentes planos horizontales o verticales de la cámara de esterilización del autoclave. Esto se hace particularmente cuando se trata de aparatos nuevos o remodelados o cuando se cambian las condiciones de carga.

Para este fin se pueden usar termopares registradores sellados (electrodos para control de calor), colocados dentro de recipientes representativos de la preparación que se va a esterilizar. En la práctica rutinaria, estos instrumentos proporcionan indicaciones más exactas de las condiciones actuales de trabajo del autoclave de las que se pudieran obtener registrando a temperatura con un termómetro en la línea de descarga de vapor.

Hay termopares que indican, además de la temperatura efectiva de esterilización, la duración de la misma.

**e). CALOR SECO.**

Se lleva a cabo entre 160 y 170 ° C, durante 2 a 4 horas en esterilizadores diseñados específicamente para este fin, que son calentados por medio de electricidad, (estufas, hornos). El empleo de calor seco para esterilizar es menos eficiente que el calor húmedo, por lo cuál en este método se usan temperaturas más altas y períodos de exposición más largos, que en el vapor bajo presión.

El tiempo de exposición y la temperatura que se utiliza son específicos para cada producto ; cuando la temperatura de éste lo permite, se alarga el primero como medida de seguridad para compensar las diferencias durante el tiempo de calentamiento y para disminuir otros factores que puedan afectar el ciclo de esterilización.

Las condiciones actuales de trabajo de los aparatos, se determinan por medio de termopares o de otros instrumentos, indicadores apropiados colocados en lugares adecuados dentro de la carga. Para esterilizar artículos resistentes al calor, las temperaturas son más elevadas y los tiempos de exposición más cortos que los empleados para los materiales sensibles al calor. Cuando sea necesario emplear temperaturas inferiores a 140 ° C el tiempo de exposición debe prolongarse.

El material del laboratorio que se esteriliza por calor seco, se envuelve previamente en papel aluminio o metálico, tratándose de frascos, matraces, tubos de ensayo, etc. cubriéndolos con papel estaño para evitar la contaminación.

Los envases para productos como ampulas o frascos ampula, etc. se puede colocar dentro de cajas de material refractario o en charolas de metal para ser esterilizados a temperaturas de 200° C o mayores por lo menos durante 45 minutos.

Las unidades del producto o del material se distribuyen dentro del horno evitando su aglomeración, para permitir así, la libre circulación del aire caliente a través de la cámara y se colocan de acuerdo con las más efectivas condiciones actuales de trabajo del esterilizador, previamente determinadas en la misma manera en todos los ciclos subsecuentes de esterilización, ya que la distribución de las unidades del producto o del material en la cámara de calentamiento, así como su tamaño y naturaleza, son entre otros, factores determinantes de la efectividad del proceso.

- \* Considérense los puntos aplicable para calor húmedo.
- \* Deberá indicarse al personal la no introducción de materiales comburentes, inflamables o líquidos que puedan generar explosiones o partículas.
- \* Deberá evitarse al máximo descargar el horno si la temperatura no es adecuada, por condiciones de seguridad.
- \* Deberá contarse con un certificado de integridad de los filtros hepa instalados.
- \* Antes de introducir una carga al esterilizador, deberá limpiarse el interior de éste de acuerdo con un procedimiento establecido.
- \* Los equipos deberán someterse a un programa de mantenimiento preventivo o predictivo.

#### f) MEDIO DE GAS.

Algunos productos sensibles al calor se pueden esterilizar, exponiéndolos a los gases óxido de etileno u óxido de propileno, en lugar de emplear calor u otros medios. Los gases puros son sumamente inflamables cuando se mezclan con el aire, pero pueden usarse sin peligro diluyéndolos con algún Gas inerte, como bióxido de carbono o con un hidrocarburo fluorinado adecuado.

La esterilización por medio de gas requiere un equipo especializado. El empleo de este método está limitado por la posible formación de sustancias tóxicas en los productos al exponerlos a la acción del gas. Esto sucede particularmente en aquellos que contienen iones cloro esterilizados con óxido de etileno.

#### g) VAPOR FLUENTE.

En este procedimiento de esterilización con calor húmedo, se usan las autoclaves, con tal que se gradué el calor y la cámara se conserve llena de vapor, pero no con presión; en tales casos, no se fija la tapa o puerta del aparato, y se deja abierta la válvula de aire para que por ella pueda salir el vapor, con lo cual sirve de válvula de seguridad, pero hay que cuidar de que no se seque el aparato. En las industrias en las que se dispone de gran cantidad de vapor de agua, se utiliza éste para destruir las formas vegetativas de bacteria en tanques, refrigeradores y lugares semejantes.

#### h) AGUA HIRVIENTE.

Cuando no se dispone de aparatos para la esterilización con vapor de agua, se puede emplear el baño de agua a 100 °C, manteniendo los objetos enteramente sumergidos en el agua.

Los instrumentos, jeringas u agujas hipodérmicas, se pueden esterilizar calentándolos en agua hirviendo por lo menos 15 minutos y para mayor seguridad se añade al agua 5% de ácido fénico; 2 o 3 % de solución jabonosa de cresol. A veces se pone en el agua 1 o 2 % de bicarbonato de sodio para evitar que se oxiden los instrumentos.

#### i) RADIACION PENETRANTE.

Algunos tipos de productos farmacéuticos se esterilizan por medio de rayos gamma o rayos catódicos. Esta técnica es conveniente para productos sensibles al calor envasados o sellados herméticamente y su aplicación es limitada, por los efectos potenciales de las radiaciones sobre la estabilidad de los productos y sus envases.

Para aplicar la dosis correcta de la radiación, antes se determina el grado de contaminación microbiana existente en los productos por esterilizar. La dosis de energía aceptada para la esterilización de productos del tipo mencionado y de los productos médicos desechables, es generalmente de 2.5 magarads, aplicados tan uniformemente como sea posible en todos los productos sometidos al proceso.

Para dosificar las radiaciones, se emplean calorímetros de tipo especial, que absorben ciertas dosis radiactivas. Con ese mismo fin, así como para comprobar la distribución de las radiaciones, también se usan soluciones de Sulfato ferroso, Sulfato cúprico ferroso o sulfato cérico, en aquellos productos que cambian de color por la acción de las radiaciones, al emplear las soluciones citadas. Además, existen indicadores cualitativos para las radiaciones.

Dos fuentes prácticas de radiación son los aceleradores de electrones y los radioisótopos.

Los primeros producen electrones de gran energía con poco poder penetrante y su uso requiere minucioso control de las variables que afectan la eficiencia de la esterilización, como son, la energía del electrón, la corriente del mismo, la amplitud de su recorrido y el tiempo de exposición. Las fuentes más comúnmente empleadas de radioisótopos son:  $^{60}\text{Co}$  y  $^{137}\text{Cs}$  que emiten rayos gamma de gran potencia y producen una radiación más útil y segura que los aceleradores de electrones. Estos atributos hacen posible el empleo de radioisótopos para esterilizar gran variedad de productos con mayor operación de control.

- \* Deberá existir un procedimiento para la elaboración de cargas patrón, acomodo, identificación, y usando doble envoltente de acuerdo con el peso o el volumen.
- \* No podrán esterilizarse aquellos materiales que puedan verse afectados en su estructura química, estabilidad, degradación, apariencia, formación de subproducto o radicales libres, entre otros factores.
- \* Deberá introducirse en cada carga un indicador biológico y realizarse una prueba de esterilidad.
- \* Todos los materiales y componentes podrán utilizarse hasta que se tenga evidencia de su esterilidad.
- \* Todos los materiales deberán ser identificados por aseguramiento de la calidad con etiquetas de cuarentena, rechazo o aprobación de acuerdo con la actualidad de resultados por inspección física o de laboratorio.

## 6. OBJETIVO DEL ENSAYO DE ESTERILIDAD EN PRODUCTOS FARMACEUTICOS.

Son pruebas y ensayos adecuados para revelar la presencia de diferentes formas de bacterias, hongos y levaduras en la mayoría de los productos farmacéuticos y en los materiales complementarios para su preparación.

Con las pruebas de esterilidad se determina la eficacia de los procesos de esterilización para la destrucción o eliminación de organismos viables. La evidencia de crecimiento microbiano, es un indicador de que el procedimiento de esterilización ha fracasado y que el producto no está estéril; la falta de crecimiento microbiano indica que el producto cumple con las condiciones de esterilidad.

La contaminación microbiana transmitida a un artículo proveniente del medio ambiente durante el curso de las pruebas de esterilidad, invalida los resultados. Es necesario demostrar el uso de las técnicas de control apropiado para los microorganismos externos que han sido excluidos durante el periodo de la prueba.

Efectuar una prueba de esterilidad, tomando pocas unidades de un grupo o unidades similares, los resultados obtenidos no pueden ser extrapolados con seguridad. Por esa razón y habiendo un plan de muestreo aplicado a las pruebas de esterilidad en una proporción específica de las unidades seleccionadas de una carga de esterilidad, no se puede demostrar con seguridad que todas las unidades no probadas están en realidad estériles.

Para el propósito de mantener y validar niveles aceptables, sin importar el estado de esterilidad de la carga de esterilización, es necesario tomar en consideración el número de factores operacionales relacionados con el diseño y ejecución del proceso de esterilización.

Escogiendo las condiciones para hacer la prueba de un producto se han hecho intentos en una variedad de medios de cultivo diferente sobre un rango de temperaturas de incubación y largos periodos de tiempo. Una prueba depende de la naturaleza del artículo interesado, el proceso de manufactura y el tipo de contaminación microbiológica.

La aprobación de que un lote llene los requerimientos de las pruebas, certifica el adecuado control del proceso antes de la esterilización, así como el proceso de esterilización del muestreo y las pruebas subsiguientes.

La responsabilidad de la selección de procedimientos de pruebas y controles que serán usados, la interpretación de los resultados y la decisión final para aceptar la esterilidad, debe de hacerse por una persona entrenada en microbiología y que tenga conocimientos básicos de los principios de esterilización y un entendimiento de los límites estadísticos del muestreo. El personal responsable debe ser informado de cualquier modificación o cambios en los procesos establecidos de manufactura, incluyendo la esterilización y el empaquetado.

El área donde se efectúan las pruebas de esterilidad deben estar sujetas a controles del medio ambiente, libre de polvo y microorganismos en el aire. El uso regular de controles o técnicas, tales como muestreo de aire ambiental, exposición de placas de agar es una ayuda efectiva para estos controles. Para reducir las posibilidades de algunas contaminaciones, la entrada al área estéril debe limitarse al personal que esté adecuadamente vestido y cuya presencia sea requerida. Las pruebas de esterilidad no deben practicarse bajo la exposición directa de la luz ultravioleta o en una área que esté sufriendo tratamiento germicida con aerosol.

La responsabilidad de un laboratorio es realizar las pruebas de esterilidad con la seguridad de que los resultados sean verdaderos en calidad de los productos en prueba.

Esta responsabilidad es posible solamente cuando el laboratorio emplee el uso regular de controles.

La combinación de estos controles positivos y negativos proporcionan la garantía en :

- La esterilidad del medio de prueba.
- La esterilidad del equipo de prueba.
- El medio ambiente del área de prueba.
- Las cualidades del medio de prueba para el desarrollo.
- Las técnicas de asepsia o experiencia del técnico en ejecutar la prueba

#### **A. MEDIOS DE CONTROL PARA EVALUACION DE ESTERILIDAD.**

Los medios de cultivo se preparan o se pueden usar las mezclas deshidratadas que se encuentran en el comercio, siempre y cuando al ser reconstituidos, según las instrucciones del fabricante tengan la misma o superior efectividad para favorecer el crecimiento de los microorganismos cultivados, que la de las fórmulas que se preparan.

Los recipientes que contienen los medios de cultivo se deben de cerrar bajo condiciones asépticas, para evitar la contaminación y la evaporación durante la incubación. Los medios ya esterilizados se conservan a temperaturas entre 20 y 30 °C y se protegen de la luz.

#### **MEDIO FLUIDO DE TIOGLICOLATO.**

Este medio de cultivo semisólido para empleo en tubo vertical sirve para aislar anaerobios facultativos y gérmenes microaerófilos.

Debido al contenido en sustancias nutritivas de elevada capacidad reductora, tioglicolato y cisteína, el medio de cultivo recién preparado posee una anaerobiosis suficiente.

Una eventual elevación del contenido en oxígeno se indica mediante el viraje de color del indicador redox resazurina sódica al rojo.

Para mantener el ambiente anaerobio luego de inocular con el material en examen, incluso durante una incubación prolongada, se puede aplicar al medio una capa de 1 cm de espesor de agar nutritivo estéril.

Conservando el medio de cultivo en la oscuridad y a temperatura ambiente, en vez de refrigerador, se mantiene utilizable durante más tiempo. No puede emplearse cuando más el tercio superior del medio vertical decolorado. Esta decoloración se puede eliminar hirviendo una vez el medio de cultivo, nuevamente se vuelve apto para el uso.

## B. PREPARACION DE MUESTRAS.

La contaminación puede producirse del exterior de los recipientes de muestras a ensayar mientras éstos se transfieran de la zona de producción a la zona de ensayos de esterilidad. Para prevenir estos riesgos de contaminación de las muestras a ensayar, debido a estos motivos, se desinfecta el exterior de los recipientes y sus tapones por inmersión de éstos en una solución de hipoclorito de sodio al 3% durante 5 minutos o más, se sacan los recipientes antes del ensayo.

El volumen de la muestra debe ser suficiente para ser representativo del lote y poder asegurar así la recuperación de los microorganismos que estuvieron presentes. Las muestras para ensayo envasadas en forma de polvo o liofilizadas, no son filtrables y por consiguiente han de solubilizarse antes de su filtración. Con productos antibióticos es permisible la utilización de enzimas de inactivación y solubilización con objeto de facilitar la filtración.

### a). PREPARACIÓN DE MUESTRAS LIQUIDAS.

Algunos antibióticos requieren la adición en el líquido de dilución, de ciertos agentes inactivadores, por ejemplo ; se debe añadir penicilinasa estéril a los líquidos de dilución de preparaciones de penicilina para su control por el método de ensayo de esterilidad por filtración con membrana.

### b). PREPARACION DE MUESTRAS EN POLVO.

Dado que muchos polvos para uso parenteral son antibióticos llenados asépticamente, de cada 20 viales, transfírase asépticamente 300 mg. de polvo a un matraz de 500 ml conteniendo de 200 a 400 ml del líquido de dilución apropiado. Agítese lo suficiente para obtener la adecuada solubilización. Si la cantidad de la muestra procedente de los 20 recipientes no pudiera ser solubilizada en un matraz, ha de dividirse ésta, por ejemplo, 300 mg de cada uno de los 10 recipientes se transfieren a un matraz y otros 300 mg. de los otros 10 recipientes restantes se transfieren a un segundo matraz. La cantidad de muestra ensayada no ha de ser menor de 6 gramos en total.

### c). PREPARACIÓN DE MUESTRAS LIOFILIZADAS.

Los viales de los productos antibióticos liofilizados contienen normalmente de 1 a 5 g de producto. Reconstitúyase asépticamente el producto con un diluyente estéril. Como muestra de control utilícese el equivalente a 300 mg del contenido de cada uno de 20 viales.

La esterilidad se fundamenta en la detección de forma viables de microorganismos, en medios de cultivo adecuados para crecimiento de bacterias, hongos y levaduras que se encuentran como contaminantes en productos estériles. Para evitar una contaminación accidental, la prueba debe llevarse a cabo en condiciones asépticas, por lo que periódicamente se realiza el control ambiental de las áreas de trabajo, así como del equipo y material empleados. Los envases de las muestras deben desinfectarse previamente a su análisis. A los productos envasados al vacío, se les debe introducir aire filtrado a través de algodón estéril.

Si el producto tiene diluyentes o algún aplicador anexo, también éste debe cumplir la prueba de esterilidad. Se debe llevar a cabo una prueba en blanco como testigo paralela a los análisis de las muestras.

## **IV. PARTE EXPERIMENTAL.**

### **PROPOSITO :**

- a. Proveer un sistema o procedimiento al personal envuelto en validaciones para verificar la eficacia de la esterilización y/ o deprogenización del equipo.
- b. Garantizar que el proceso de esterilización cumpla con los requisitos establecidos y que los ciclos de esterilización produzcan suficiente letalidad para realizar la destrucción microbiológica dentro de los márgenes confiables de seguridad.
- c. Instituir técnicas de validación para el proceso de esterilización en el equipo, tales como estudio de distribución de calor, aire ambiental, personal, etc.

### **VALIDACION DE EQUIPOS :**

1. Método de validación del proceso de esterilización con calor seco.
2. Método de validación de las autoclaves de vapor de agua.
3. Método de validación del área estéril y del área donde se realizan las pruebas de esterilidad.

### **1. METODO DE VALIDACION DEL PROCESO DE ESTERILIZACION CON CALOR SECO.**

#### **A. EQUIPO :**

1. Anotador de temperatura.
2. Doce pares termoeléctricos de hierro.
3. Baño de temperatura constante.
4. Termómetro.
5. Indicadores biológicos - botellas conteniendo solución de esporas *B. subtilis* y botellas conteniendo pirógenos en seco.
6. Carga típica - aquella considerada ser un patrón de carga representativo para el ciclo de esterilización.
  - a). Cada unidad de producción deberá proveer especificaciones estableciendo el tipo de equipo o materiales, el número máximo de unidades que permitirá en cada carga a ser esterilizada.

b). Cada unidad de producción diseñará en forma realista los patrones de carga representativos que maximicen la eficiencia de la producción mientras se obtiene la destrucción microbiológica deseada.

#### B. PROCEDIMIENTO :

1. La unidad de control de calidad deberá asegurarse de que los límites aceptables establecidos para la contaminación bacteriológica máxima no sobrepase una cuenta de  $10^6$  y deberá asegurarse del uso de esporas *B. Subtilis* y pirógenos para validar la letalidad provista por el ciclo de esterilización.
2. La unidad de control de calidad cotejará el expediente, la calibración de equipo de todos los instrumentos del proceso de esterilización, tales como el sensor de temperatura de la esterilizadora, anotadores de temperatura, marcadores de tiempo, etc.
3. La unidad de mantenimiento deberá verificar la calibración de pares termoelectrónicos y el anotador de temperatura, inmediatamente antes y después de realizar cada estudio de validación. Si la calibración de cualquier par termoelectrónico y/o del sistema anotador de temperatura de puntos múltiples no coinciden antes ni después del estudio dentro de  $+ 1^\circ \text{F}$ , descartar dicho estudio y proveer al equipo el mantenimiento que sea necesario.
4. Estudios de validación deberán ser realizados para cada patrón de carga. Los parámetros a ser mantenidos son : fijar la temperatura a  $260^\circ\text{C}$  ( $500^\circ\text{F}$ ) para ser mantenida por los relojes de control durante 1 :25 horas. Deberán conservarse todos los expedientes y datos que corroboren la efectividad de los ciclos de esterilización, control de parámetros establecidos, y efectividad y eficiencia esterilizadora comprobada por el reto biológico de esporas *B. subtilis* y pirógenos.

#### ESTUDIOS DE DISTRIBUCIÓN DE CALOR :

- a) Demostrar que la distribución de calor en la cámara de esterilización es uniforme y reproducible.
- b) Establecer que tres ciclos repetidos dan por resultado distribuciones de calor reproducibles dentro de la cámara de esterilización.
- c) Proveer asesoramiento preliminar de las condiciones de esterilización dentro de la cámara.

#### PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO :

- a) Colocar los doce pares termoelectrónicos dentro de la cámara vacía de la esterilizadora.
- b) Efectuar dos ciclos rutinarios de esterilización con la cámara vacía, para determinar si el ciclo se distribuye uniformemente dentro de dicha cámara de esterilización y en forma reproducible, dentro de los límites aceptables.
- c) Efectuar un tercer ciclo rutinario colocando al lado de cada par termoelectrónico un frasco conteniendo esporas *B. subtilis* en solución y un frasco conteniendo pirógenos en seco, para proveer evidencia de la efectividad de las condiciones esterilizantes dentro de la cámara de esterilización. Reservando como control un frasco de cada uno de los retos biológicos de los mismos lotes usados en la prueba de validación.
- d) Verificar que el medio esterilizante es capaz de mantener una temperatura constante, con una desviación de :

- 1).  $\pm 70^{\circ}\text{F}$  entre pares termoelectrónicos en cada prueba en particular.
- 2).  $\pm 70^{\circ}\text{F}$  entre pares termoelectrónicos entre pruebas repetidas
- e). Efectuar estudios de distribución de calor en cada esterilizadora individual a utilizarse.

#### ESTUDIOS DE PENETRACIÓN DE CALOR.

Demuestra que el material y equipo objeto de esterilización fue sometido a las normas de procesos de esterilización requeridas sin tomar en consideración su ubicación dentro de la cámara esterilizadora.

#### PROCEDIMIENTO DEL ESTUDIO.

- 1) El estudio debe realizarse con cada esterilizadora a ser utilizada y con cada patrón de carga representativo.
- 2) Distribuir uniformemente los pares termoelectrónicos a través del interior de la cámara, dentro del material a ser esterilizado. Colocar uno de los pares termoelectrónicos lo más cerca posible al sensor de control de temperatura del esterilizador.
- 3) Efectuar dos ciclos de esterilización rutinarios para determinar los puntos más fríos dentro de la carga de esterilización.
- 4) Efectuar un tercer ciclo de esterilización colocando un frasco de soluciones de esporas B. subtilis y un frasco de pirógenos en seco al lado de cada par termoelectrónico, para proveer evidencia de la efectividad de las condiciones esterilizantes dentro de la cámara esterilizadora, Reservar como control un frasco de B. subtilis y un frasco de pirógenos de los mismos lotes usados en la prueba de validación.
- 5) Deberán conservarse todos los expedientes y datos que corroboren la efectividad de los ciclos de esterilización, control de parámetros y efectividad esterilizadora comprobada por los retos biológicos de esporas B. subtilis y pirógenos.

#### FRECUENCIA DE ESTUDIOS DE VALIDACION.

- 1) Deberán repetirse estudios de validación cuando se realicen cambios en el equipo, o en el proceso de esterilización, que pudiese afectar la transmisión de calor al equipo o materiales objeto de la esterilización como calor seco, tales como :
  - a) Cambios en patrones de carga establecidos o tipo de material que integran la carga.
  - b) Cambios en los puntos de control de las variables del proceso de esterilización.
- 2) La frecuencia normal de los estudios de validación será de por lo menos uno cada año.
- 3) La unidad de producción notificará a las partes interesadas, control de calidad, mantenimiento, etc., cuando ocurran cambios como los enumerados en los incisos a) y b) y deberán coordinar la repetición de las pruebas de validación requeridas

## **2. METODOS PARA LA VALIDACION DE LAS AUTOCLAVES DE VAPOR DE AGUA.**

### **A. EQUIPO.**

1. Anotador de temperatura
2. Doce pares termoelectricos de hierro.
3. Sellos para presión que garanticen sellado hermético del punto de acceso para los pares termoelectricos en la cámara de la autoclave.
4. Baño maria para aceite de temperatura constante.
5. Termómetro
6. Indicadores biológicos - tiras de esporas que contengan cada uno  $10^4$  esporas B. *stearothermophilus*.
7. Carga típica - considerada ser un patrón de carga representativa para el ciclo de esterilización rutinario particular.

### **B. ESTUDIO DE DISTRIBUCION DE CALOR.**

Se debe realizar el estudio de distribución de calor para :

1. Garantizar la distribución de calor en la cámara de la autoclave que sea uniforme y reproducible.
2. Establecer que tres ciclos repetidos para cualquier patrón de carga en particular da por resultado distribuciones de calor reproducibles dentro de la cámara en un margen de  $\pm 0.5^\circ$  C.
3. Establecer los requisitos aceptables para cada esterilizadora, para cada patrón de carga y cada envase que se use.

### **PROCEDIMIENTO PARA EL ESTUDIO.**

A. Colocar once pares termoelectricos dentro de la cámara de la autoclave, de acuerdo al patrón de carga establecido.

1. Cada unidad de producción deberá proveer especificaciones estableciendo el tipo de equipo o materiales y el número máximo de unidades que se permitirá en cada carga a ser esterilizada
2. Cada unidad de producción diseñará en forma realista los patrones de cargas máximas y mínimas que maximizen la eficiencia de la producción mientras se obtiene la destrucción bacteriológica deseada.

- B. Colocar el par termoelectrico número doce en el baño de aceite a temperatura constante localizado fuera de la autoclave, junto con el termómetro para verificar continuamente la calibración de los pares termoelectricos y el anotador de temperatura de puntos múltiples.
- C. La unidad de producción deberá colocar tiras de esporas al lado de cada uno de los once pares termoelectricos ubicados en los puntos previamente determinados.
- D. Repetir tres ciclos rutinarios para determinar la distribución del calor dentro del autoclave vacía y la autoclave cargada.
- E. Verificar que el medio esterilizante es capaz de sostener la temperatura a través de la cámara de la autoclave dentro de  $\pm 0.5^\circ \text{C}$  de la temperatura deseada durante el periodo de tiempo especificado en el paso de esterilización del ciclo.
- F. Si surgiesen problemas para mantener la temperatura al nivel deseado, cotejar la relación de temperatura y presión obtenida mediante la prueba con la tabla 1, para vapor saturado o estratificado dentro de la cámara. ( El aire puede actuar como barrera a la penetración de calor, aumentando la posibilidad de que los microorganismos no reciban suficiente calor lateral).

#### RELACION TEMPERATURA / PRESION PARA VAPOR SATURADO.

PRESION (Lbs./Pulg <sup>2</sup> )	TEMPERATURA ° F	TEMPERATURA ° C
11	241.5	115.2
13	245.8	117.5
15	249.8	119.7
17	253.4	121.7
19	257.0	123.7
21	260.4	125.6
23	263.7	127.4
25	266.7	129.0
27	269.8	130.7
29	272.7	132.3
31	275.4	133.8

#### ESTUDIOS DE PENETRACION DE CALOR.

Demostrar que el material y equipo objeto de la esterilización con vapor de agua fueron sometidos a las normas de procesos requeridos, a pesar de su punto de localización dentro de la cámara esterilizadora.

#### PROCEDIMIENTO :

- a) Deberán realizarse estudios de penetración de calor dentro del medio esterilizante, para cada tamaño de recipiente a ser esterilizado en las operaciones de producción.
- b) Cargar la esterilizadora de acuerdo al patrón de carga establecido.

- c) Realizar una prueba inicial de penetración de calor probando extensamente el material a esterilizarse con los once pares termoeléctricos, para determinar el punto que tarda más en calentarse (o sea, el punto más frío de la cámara)
  - d) Colocar el par termoeléctrico número doce en el baño de aceite a temperatura constante localizado fuera de la esterilizadora, junto con el termómetro para verificar continuamente la calibración de los pares termoeléctricos y el anotador de temperatura de puntos múltiples.
  - e) Una vez que el punto más frío, o que tarda más en calentarse dentro del material en particular a ser esterilizado es determinado, deberá establecerse el área más fría dentro de la carga total del medio de los pares termoeléctricos colocados dentro de cada uno de los once artículos colocados en los puntos más fríos predeterminados.
  - f) La unidad de producción deberá colocar once tiras de esporas que cumplan con los requisitos de resistividad estipulados, en los puntos más fríos dentro de los recipientes o materiales individuales donde se colocaron los pares termoeléctricos.
- Deberán usarse las tiras de esporas para validar los ciclos de esterilización.
  - Tiras de esporas vivas indican presencia potencial de aire dentro de la carga.
  - El tiempo requerido es de 15 minutos para destruir los indicadores biológicos utilizados para esterilizaciones con vapor de agua a 121° C.

#### D. FRECUENCIA.

Deberán repetirse estudios de validación cuando se realizan cambios en el equipo o en los procesos de esterilización que pueda afectar la transmisión de calor al equipo o materiales objeto de la esterilización con vapor de agua, tales como :

- a) Cambios en patrones de carga establecidos o en la clase de equipo y/o materiales que constituyen la carga.
- b) Cambios en los puntos de control de las variables del proceso de esterilización, tales como : temperatura, presión y tiempo.
- c) La frecuencia normal de las pruebas de validación será de por lo menos una vez cada tres meses.

### 3. METODOS DE VALIDACION DEL AREA ESTERIL Y DEL AREA DONDE SE REALIZAN LAS PRUEBAS DE ESTERILIDAD.

Debe comprobarse la esterilidad de superficies, determinando si existe un punto de contaminación. Se emplean dos tipos de procedimientos de pruebas como se describe :

#### A. SUPERFICIES EXPUESTAS (PAREDES, PISOS, ETC.)

##### MATERIAL :

Placas de conteo Rodac  
Bacto Agar D/E neutralizante

##### PROCEDIMIENTO :

La placa fue diseñada para la determinación de contaminantes de superficie (contaminantes microbiológicos) por contacto directo y empleando una capa elevada de agar, aproximadamente de 16 a 17 ml. de agar, se colocan en la sección del centro de una placa Rodac, después de que se enfríe la capa protegida por la tapa. Preincubese estas placas 5 días a 32 ° C asegurándose que las placas estén estériles antes de la prueba de exposición.

Se quita la tapa y la superficie de agar se presiona ligeramente contra la superficie que esta en prueba.

La tapa se pone en su lugar y el punto de contacto se limpia con germicida para remover el agar que haya quedado.

Las placas de agar D/E neutralizante son incubadas 32° C ( $\pm 2$  ° C) por dos días y luego a temperatura ambiente 20 a 22 °C por tres días, examinar las placas.

#### B. LUGARES DE DIFÍCIL ACCESO (HOYOS, QUEBRADURAS, Y OTRAS ÁREAS)

##### MATERIAL :

Hisopos  
Tubos de prueba  
Caldo de Trypticaseína estéril.

##### PROCEDIMIENTO :

Se coloca un hisopo dentro de un tubo de ensayo de manera que el algodón este sumergido en el agua de 1 a 3 ml contenida en el fondo del tubo. Se tapa el tubo con una torunda y se esteriliza en autoclave por 30 minutos a 121 ° C.

Se saca el hisopo del tubo y se aplica con movimiento circular en la superficie de la prueba. Se introduce el hisopo en un tubo de ensayo conteniendo de 10 a 15 ml de caldo líquido estéril (trypticaseína), que ha sido preincubado para confirmar la esterilidad. Para cada hisopo se usa un tubo de ensayo, el área probada con el hisopo se lava con solución germicida.

El caldo se incuba a 32 ° C  $\pm 2$ , por dos días y luego a temperatura ambiente por tres días. Se examina visualmente todos los días el medio para observar si muestra signos de crecimiento.

**CONTROLES NEGATIVOS :**

- A. Debe verificarse la esterilidad del medio de prueba antes de usarse, esto se comprueba por la incubación del medio durante 96 horas a 30 o 32 ° C y se usa el medio de prueba únicamente cuando se ha comprobado que esta estéril.
- B. La esterilidad del equipo de prueba es verificado de acuerdo al tiempo de esterilización por indicadores biológicos y adicionalmente en las pruebas de control negativo.
- C. Pruebas del medio ambiente. En adición a los controles del medio ambiente (con exposición de placas, placas de conteo o hisopos) este medio ambiente es probado contra las pruebas de contacto de control negativo.
- D. La experiencia y habilidad del manipulador para llevar a cabo las técnicas, para transferir asépticamente el material verificado por la prueba de control negativo.

**CONTROL POSITIVO.**

Cualidades del crecimiento del medio. Cada lote debe ser verificado para promover el crecimiento, esto se hace, inoculando los tubos de cada lote (0.1 ml de una dilución de 1:1000 de un cultivo de 24 horas de *S. aureus*, *B. subtilis*), debe mostrar desarrollo en 48 horas.

#### 4. SISTEMA CRÍTICO

Son aquellos que tienen impacto directo en los procesos y/o productos.

Instalaciones y equipos utilizados para el control y suministro de Agua Purificada, Agua para la Fabricación de Inyectables, Aire Ambiental de zonas asépticas así como de vapor limpio, aire comprimido y nitrógeno que pudieran estar en contacto con los insumos y/o productos.

#### VALIDACIÓN DEL SISTEMA

- La VALIDACIÓN es la demostración científica.
- La VALIDACIÓN consta en demostrar que el sistema se encuentra bajo control y que los resultados sean reproducibles y trazables.
- La VALIDACIÓN es una “conclusión”

#### VALIDACION DE SISTEMAS CRÍTICOS : AIRE

1. En cualquier instalación tipo farmacéutico que se diseñe para operaciones manuales o automáticas, el control ambiental es un factor crítico determinante para el éxito de las operaciones.
2. El diseño y construcción que está relacionado con un “cuarto limpio” debe incluir las siguientes consideraciones :
  - Volumen aire
  - Velocidad aire
  - Carga partículas (especialmente viables)
  - Temperatura
  - Humedad relativa
  - Presiones Diferenciales

#### A). PRUEBAS A REALIZAR (PROCEDIMIENTOS)

##### a). FILTROS HEPA

\* Integridad filtros (leak test)

Filtros debidamente colocados

- Puertos Emerit
- Generador Emerit 3004
- Tanque Nitrógeno
- Fotómetro calibrado para leer Emerit
- Reporte de aprobado o desviación.

- \* CUENTA PARTÍCULAS
  - Prueba de integridad satisfactoria
  - Área limpia
  - Contador óptico de partículas, calibrado valor mínimo muestreo 1.0 ft<sup>3</sup>/ min. y capacidad de tamaño de partícula mínima de 0.5 μ.
  
- \* VELOCIDAD FLUJO AIRE
  - Anemómetro calibrado
  
- \* PERFIL DE FLUJO AIRE
  - Tetracloruro de Titanio
  - Vaneómetro.
  
- \* TEMPERATURA Y % HUMEDAD RELATIVA
  - Termohigrómetro calibrado
  
- \* PRESIONES DIFERENCIALES.
  - Micromanómetro calibrado
  
- \* CAMBIOS AIRE POR HORA
  - Memoria cálculo
  - Velocidad flujo aire.
  
- \* MONITOREO MICROBIOLÓGICO

**B). DIFUSORES AIRE**

- \* Velocidad de flujo aire
- \* Presiones diferenciales
- \* Cambios aire por hora
- \* Perfil de flujo aire
- \* Temperatura y % Humedad relativa
- \* Monitoreo Microbiológico

El sistema de aire se encontrará calificado y validado una vez cumpliendo como mínimo con lo anteriormente expuesto.

A su vez, la validación del sistema deberá calendarizarse como parte de los estatutos de validación que marcan que debe mantenerse bajo control.

Si el sistema llega a tener cambios, estos deben documentarse por medio del control de cambios y evaluar si el cambio obedece a una recalificación y revalidación.

Al realizar estos estudios, se debe emitir un reporte, el cual puede sustentar la aprobación de las autoridades correspondientes.

## **VALIDACIÓN DE SISTEMA CRÍTICOS : AGUA PARA USO FARMACÉUTICO.**

### **ELEMENTOS DE VALIDACIÓN**

- \* EQUIPOS
- \* SISTEMAS CRÍTICOS
- \* INSTALACIONES
- \* INSUMOS
- \* MÉTODOS ANALÍTICOS
- \* SISTEMAS ASISTIDOS POR COMPUTADORA
- \* LIMPIEZA.

### **CALIFICACIÓN DE INSTALACIÓN ( IQ )**

- \* Etapa del proceso de Validación que establece mediante estudios y documentación adecuados que el equipo, sistemas y áreas están instalados en base a sus especificaciones de diseño.

### **CALIFICACIÓN DE OPERACIÓN ( OQ )**

- \* Etapa del proceso de Validación que demuestra que el equipo, sistema o área opera conforme a las especificaciones de diseño establecidas.

### **CALIFICACIÓN DEL DESEMPEÑO (PQ)**

- \* Etapa del proceso de Validación que consiste en efectuar pruebas rigurosas para demostrar la efectividad y reproductibilidad del proceso.

TABLAS 2, 3 (ANEXO)

### **VALIDACIÓN**

- \* PRETRATAMIENTO
  - Calificación de la instalación de Equipos.
  - Calificación de la operación de Equipos.
- \* TRATAMIENTO
  - Calificación de la instalación de Equipos.
  - Calificación de la operación de Equipos.

## **VALIDACIÓN**

- \* Circuito de distribución
- ◆ Equipos
- Tanque
- Intercambiador de calor
- Bombas
- ◆ Distribución
- ◆ Calificación de Instalación.
- ◆ Calificación de la operación.

## **VALIDACIÓN**

- ◆ Calificación de la Operación del Sistema.
- ◆ Calificación del Desempeño del Sistema.
- Fase I
  - Fase II
  - Fase III
  - Control de Cambios

## **FASE I DE VALIDACIÓN**

- . En esta fase se establecen los parámetros de operación, limpieza y sanitización así como desarrollar todos los procedimientos que sean necesarios.
- . El muestreo debe realizarse diariamente después de cada etapa del proceso de purificación y en cada punto de uso, con una duración de 2 a 4 semanas.
- . Se debe contar con el diagrama del sistema en donde se encuentran localizados los puntos de muestreo.
- . Se debe contar con una lista de válvulas y/o puntos de muestreo, con su respectiva codificación y localización.

## **FASE II DE VALIDACIÓN.**

- . En esta fase se demuestra que el sistema produce consistentemente agua de calidad deseada cuando el sistema es operado conforme a los PEO's desarrollados en la Fase I.
- . Las condiciones de muestreo son las mismas que para la FASE I por un periodo de 2 a 4 semanas.

## **FASE III DE VALIDACIÓN.**

- . En esta fase se demuestra que cuando el sistema es operado acorde con los PEO's por un período largo de tiempo (un año como mínimo) el sistema produce consistentemente agua de calidad deseada.
- . El muestreo en esta fase no es tan riguroso como en la primera fase, este puede ser conforme a los procedimientos de rutina.
- . Para los sistemas de agua para inyección el muestreo debe ser tomado como mínimo un punto de uso, muestreando todos los puntos de uso semanalmente.

**CIRCUITO DE DISTRIBUCIÓN**

- Calificación de la Operación
- \* Programa de Monitoreo : El sistema debe tener instalado válvulas de muestreo antes y después de cada una de las etapas de purificación para que se realicen los muestreos de agua para llevar a cabo los análisis fisicoquímicos y microbiológicos correspondientes.
- \* Procedimiento de limpieza y sanitización : Se deberá contar con un procedimiento de limpieza y sanitización aprobada por los departamentos involucrados, para mantener el sistema libre de contaminación
- \* Es recomendable que el agua para la fabricación de inyectables se mantenga permanentemente en recirculación y a 80°C.
- \* Es recomendable que el agua purificada se mantenga permanentemente en recirculación y únicamente calentamiento por las noches a 80 ° C

**NIVELES DE PURIFICACIÓN**

- \* PRETRATAMIENTO
- \* TRATAMIENTO PRIMARIO
- \* PULIDO.

\*  
PRETRATAMIENTO :

- Adición de Componentes Químicos.
- Filtro de Arena Verde.
- Filtro Multimedia.
- Suavizadores.
- Filtro de carbón activado.

**ADICIÓN DE COMPONENTES QUÍMICOS.**

- |  |  |
|--|--|
| <ul style="list-style-type: none"> <li>* Proceso</li> <li>- Metabisulfito de Sodio</li> <li>- Agentes Secuestrantes</li> <li>- Adición de Acido</li> <li>- Adición de Bases</li> <li>- Adición de Cloro</li> </ul> | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Propósito</li> <li>- Remueve cloro</li> <li>- Controla la formación de scaling.</li> <li>- Controla la formación de scaling y baja el pH</li> <li>- Reduce el CO<sub>2</sub> y aumenta el pH</li> <li>- Controla el crecimiento bacteriano</li> </ul> |
|--|--|

**CLORINACIÓN :**

Su mecanismo de acción es a través de la unión de cloro a estructuras celulares para la formación de productos clorinados que tienen efectos dañinos para los microorganismos.

### **FILTRO DE ARENA VERDE**

Su mecanismo de acción es similar al del intercambio iónico.

USOS :

- Remueve el hierro y el manganeso.
- Reduce el elemento y lo hace precipitar.
- El precipitado es atrapado en el medio.

DESVENTAJAS :

- El agente regenerante es permanganato de potasio altamente oxidante.
- Ecología.

### **FILTRO MULTIMEDIA**

- Remueve las partículas en suspensión hasta 10 micras.
- Este tipo de equipo se encuentra al principio del sistema.
- Usa arena de diferentes tamaños.
- Requiere retrolavados periódicos.

### **SUAVIZADORES**

- El mecanismo de acción es de intercambio iónico.
- Remueve los iones de Calcio y Magnesio
- Se libera sodio en el proceso.
- Requiere de regeneración.

### **FILTROS DE CARBÓN ACTIVADO**

- Su mecanismo de acción
  - \* Funciona como filtro
  - \* Reacciona químicamente con el cloro en una reacción de oxidación química del cloro.
  - \* Retiene los compuestos orgánicos de bajo peso molecular o disueltos.
  - \* Los compuestos orgánicos de alto peso molecular son fragmentados por el cloro.

### **FILTRACIÓN**

- Niveles de Filtración
  - Prefiltración 3 a 5 micras.
  - Microfiltración 0.2 micras.
  - Ultrafiltración 0.08 micras.

## **COLUMNAS DE INTERCAMBIO IÓNICO**

- Tipos :
  - \* Columnas de lecho catiónico
  - \* Columna de lecho aniónico.
  - \* Columnas de lechos mixtos (pulidor)
- Deionizador continuo (pulidor)
  
- VENTAJAS
  - Capaces de remover todos los iones presentes.
  
- DESVENTAJAS
  - Requiere de ácidos o bases fuertes como agentes regenerantes.
  - Requiere de neutralización de los desechos.
  - Desprende partículas
  - No es una barrera consistente para orgánicos, bacterias y coloides.

## **OSMOSIS INVERSA**

La Ósmosis inversa usa una membrana semipermeable en contrapresión para remover el 95% de los contaminantes.

Es uno de los métodos aceptados por la FDA para obtener agua purificada.

El proceso es capaz de remover :

- Iones.
- Bacterias
- Pirógenos
- Coloides de fierro y silice
- Partículas y TOC.

## **DESTILACIÓN :**

Es el método tradicional para la obtención de agua purificada y para la fabricación de inyectables, aceptado por la FDA.

Reduce iones, remueve bacterias, pirógenos y sólidos suspendidos.

## **CIRCUITO DE DISTRIBUCIÓN**

- Almacenamiento
  - Tanque de acero inoxidable
  - Conexiones sanitarias
  - Filtro de venteo
  - Capacidad de sanitización
  - Monitoreo de temperatura.

## **SANITIZACIÓN**

- ❖ Agua caliente
- ❖ Ozono
- ❖ Esterilización

## V.- PROCEDIMIENTO DE VALIDACION :

### 1. AUTOCLAVE

Para validar la autoclave se pusieron al mismo tiempo los siguientes indicadores biológicos : Cinta testigo de esterilización en autoclave (masking - tape) Spordex y Timecard, en diferentes tiempos con la misma presión y temperatura y con diferentes presiones y temperaturas en un tiempo determinado.

SPORDEX, es un sobre que contiene una tira de esporas *B. subtilis* y *B. stearothermophilus*, después de la esterilización a presión de vapor a 121 ° C en 30 minutos de exposición se saca la tira de esporas del sobre y se siembran en un tubo conteniendo Trypticaseína soya, se incuban 7 días a una temperatura de 60 °C después de ese tiempo, si el medio es turbio, fue incorrecta la esterilización, si el medio es claro la esterilización es correcta.

CINTA TESTIGO ( MASKING-TAPE ), es una cinta que a un tiempo y una presión determinada se colorean en la cinta líneas negras que verifican la esterilidad. Cuando la coloración de las líneas es tenue significa que la esterilización no es correcta.

TIMECARD, es una tarjeta de tiempo de color morado que esta dividida en tres secciones, cada sección vira de color verde según el tiempo y presión de exposición.

La sección número 1 cambia de color cuando ha sido expuesta la tarjeta a presión de vapor a 121 ° C por un intervalo aproximadamente de 5 minutos.

La sección número 2 cambia de color cuando ha sido expuesta la tarjeta a presión de vapor a 121 °C, por un intervalo de 12 a 13 minutos.

La sección número 3 cambia de color cuando ha sido expuesta la tarjeta 22 minutos a una presión de vapor de 121 ° C , a los 25 minutos es el cambio total de la tarjeta.

### 2. HORNOS.

Para la validación de hornos no se pueden usar los indicadores biológicos en forma de cintas o tarjetas porque se queman, sino que se usan en forma de tubos que contienen pastillas de esporas a 150° C, durante 2 horas.

### 3. AREA ESTERIL.

En el área estéril y el área donde se realizan las pruebas de esterilidad, en cada lote de producción se exponen placas de conteo con agar neutralizante para la determinación de contaminantes microbiológicos , en los lugares de difícil acceso se toman muestras con isopos que se introducen en caldo trypticaseína estéril, se incuban y después del tiempo establecido se observan :

El número de colonias aceptadas en la placa de conteo es de 0 a 3 tanto en el área estéril como en el área donde se realizan las pruebas de esterilidad.

Los tubos de ensayo que contienen los isopos no deben de mostrar signos de crecimiento para que la esterilidad sea correcta.

#### 4. DISCUSION DE LA PARTE EXPERIMENTAL.

##### INDICADORES BIOLOGICOS :

Los bioindicadores para esterilización son preparados biológicos que contienen microorganismos vivos, en la mayor parte de los casos una sola especie formadora de esporas, con resistencia conocida frente al agente esterilizante.

Los bioindicadores pueden clasificarse de acuerdo con el agente esterilizante (por ejemplo, calor seco, vapor de agua, radiaciones ionizantes, gases o líquidos) o con la forma de aplicación (por ejemplo, material a esterilizar inoculando con organismos indicadores).

Para cada agente esterilizante hay que escoger generalmente bioindicadores especiales con determinados microorganismos que ofrezcan la resistencia óptima frente al agente de esterilización.

La elección del organismo de ensayo depende de las características del correspondiente proceso de esterilización y del material a esterilizar.

##### a). FORMAS DE LOS BIOINDICADORES.

Para control de la esterilización por vapor encuentran aplicación esporas nativas del suelo, como bioindicadores más primitivo en forma de los llamados "Paquetitos de tierra de esporas". La tierra de esporas, contienen al contrario de otra forma de indicadores, una mezcla no homogénea de esporas de distintas termoresistencia de las especies más variadas de bacilos y clostridios existentes en el suelo.

Las tiras de esporas, contienen generalmente sólo esporas de una o dos especies de bacilos conocidos sobre papel, conociéndose el número de esporas sólo de forma aproximada. También han encontrado aplicación como soportes otros materiales, por ejemplo, hojas de metal y plástico, perlas de vidrio, arena. Representa un desarrollo posterior de las tiras de esporas el sistema en el que la tira de esporas y una ampollita de vidrio con solución nutritiva se encuentran en una bolsa o tubo de plástico.

Para el control de esterilización de volúmenes de líquidos pequeños y grandes, el bioindicador en ampollitas, representa la solución óptima en la actualidad.

b). REQUISITOS DE SEGURIDAD PARA BIOINDICADORES Y SUS MICROORGANISMOS.

- \* Deben ser patógenos
- \* No deben formar toxinas, ni pirogenos.
- \* No debe ser posible una multiplicación a 37 ° C o temperaturas más bajas.
- \* El envase debe estar preparado de tal manera que quede prácticamente descartada una contaminación del material a esterilizar o de su alrededor.
- \* En la transferencia de los gérmenes indicadores al medio de ensayo para el control de la viabilidad, debe quedar descartado el riesgo de contaminación.

c). REQUISITOS DE EFICACIA PARA BIOINDICADORES.

- \* Los organismos de ensayo deben ser fácilmente cultivables, es decir, deben mostrar un crecimiento rápido y claro en medios de cultivo habituales así como un distintivo estructural o funcional característico.
- \* Los organismos indicadores deben ser resistentes frente al agente esterilizante, esta resistencia debe ser reproducible, y debe ser más resistente que los contaminantes presentes normalmente.
- \* El número de células de microorganismos (esporas) por unidad de medida (volumen, peso, superficie) debe ser claramente superior al número de gérmenes contaminantes existentes en la práctica en el material a esterilizar.
- \* El número de gérmenes de ensayo y su termorresistencia debe ser constante durante largo tiempo.
- \* Como característica de eficacia debe ser conocido :
  - El número de microorganismos bioindicadores por unidad de medida antes del proceso de esterilización.
  - El tiempo decimal de reducción (tiempo en minutos para una temperatura determinada que es necesario para reducir a un décimo el número de esporas capaces de vivir).
  - Tiempo de destrucción a 121 ° C (en vapor de agua a presión).

d). DECLARACION DE UN BIOINDICADOR.

- \* La identidad del microorganismo (designación de la especie, número de colección).
- \* La forma presente del microorganismo o de los microorganismos (células vegetativas, esporas).
- \* El tipo de material soporte y de confección (papel, metal, vidrio, arena, solución nutritiva, etc., sobre tiras de papel, en paquetitos, en ampollitas, en otros).

- \* Las características de la eficacia.
- \* El número de lote y la fecha de fabricación.
- \* Fecha de caducidad.
- \* Instrucciones de empleo y almacenamiento.
- \* Instrucciones de destrucción.

Sólo cuando los bioindicadores cumplen con estas condiciones pueden utilizarse junto con los controles físicos reconociéndoles el mismo valor.

#### e) USO DE TIRAS DE ESPORAS.

Cuando se usan tiras de esporas impregnadas con esporas bacterianas para determinar la eficacia del proceso de esterilización, se debe tener cuidado que las tiras hayan sido estandarizadas correctamente para el tipo de esterilización y los rangos de temperatura que han sido probados, también es necesario asegurar el lugar correcto de cada tira en porción del paquete en prueba o carga más inaccesible al vapor de gas o calor seco.

El proceso recomendado es :

- \* Seleccionar uno o más de los grandes y densos paquetes con sus constituyentes normales a la carga rutinaria.
- \* Insertar uno o más sobres conteniendo la tira de inoculación (spordex) en el centro de cada paquete.
- \* Identificar los paquetes en prueba marcándolos y poner los paquetes en la orilla, en la parte baja de la cámara de esterilización. Adicionar el resto de la carga de la manera usual y esterilizar conforme a el procedimiento estándar.
- \* Al completar el ciclo de esterilización quitar ambos sobres de los paquetes en prueba y entregarlos intactos al laboratorio para comprobar la esterilidad de las tiras.

#### PROCEDIMIENTO DE PRUEBA DE ESTERILIDAD.

Los microbiólogos o técnicos microbiológicos deben de tener una rígida observación durante todo el procedimiento.

- \* Abrir una punta de los sobres con tijeras estériles, cuidadosamente sacar las tiras de esporas con pinzas estériles y sumergirlas en cada uno de los tubos conteniendo 10 ml de soya trypticaseína.

- Incubar los tubos por 7 días de 32 a 37 ° C, si las tiras estuvieran expuestas a cualquier esterilización de gas o aire seco. Incubar las tiras a 60 ° C si fueran expuestas a esterilización por vapor.

Observar los tubos diariamente durante el periodo de incubación. Si el medio es turbio, esto indica el desarrollo de bacterias probablemente debido a que las esporas sobreviven en el ciclo de esterilización.

#### CONTROLES :

Uno o más controles positivos deben ser incluidos en cada serie de pruebas realizadas mensualmente. Esto requiere la transferencia de una tira de esporas que no han sido expuestas de un tubo con medio preparado recientemente seguida de la incubación a una temperatura correcta. Un resultado positivo indica que el medio dispone de propiedades adecuadas para el desarrollo y la tira de esporas viables antes del proceso de esterilización.

Un control negativo consiste en uno o dos tubos de caldo trypticaseína soya, debe ser incluido en cada serie de la prueba. La ausencia de crecimiento, después de la incubación, muestra que el medio es efectivamente estéril anterior al procedimiento de la prueba de esterilidad.

#### f) USO DEL BIOINDICADOR EN AMPOLLETAS.

Es un indicador en ampollitas cerradas con esporas de bacilos *stearothermophilus* de termoresistencia estandarizada en un caldo nutritivo estandarizado con carbohidratos de reacción así como un indicador de pH. El indicador es amarillo en medio ácido y violeta en medio alcalino (intervalo de viraje pH 5.2 a 6.8). Las ampollitas se incuban después de la esterilización en autoclave, multiplicándose las esporas todavía vivas y formándose productos ácidos de metabolismo que provocan el viraje del color del contenido de la ampollita de violeta a amarillo, indicando con ello una esterilización incompleta.

#### APLICACIÓN :

Se agrega una cantidad adecuada de ampollitas a la carga del autoclave. En autoclave de hasta 250 litros de capacidad se agregan por lo menos 2 ampollitas, en aquellos de más de 250 litros por lo menos 6 ampollitas.

Para evitar la contaminación en caso de que se rompa alguna ampollita, se recomienda ponerlas en un recipiente de vidrio.

Las ampollitas se colocarán en aquellos lugares del autoclave en los cuales la experiencia indica que existen las peores condiciones para la esterilización, es decir, en la parte inferior y media del autoclave.

Luego de la esterilización se incuban a 55° C hasta 24 horas o en caso necesario hasta 48 horas. Como control se incubara una ampollita no esterilizada.

EVALUACION :

La esterilización correcta se evidencia por la persistencia del color violeta de la solución de la ampolleta (sterikon).

Si la esterilización ha sido insuficiente, las esporas del *Bacillus stearothermophilus* habrán sobrevivido. El contenido de la ampolleta suele mostrar en este caso, después de algunas horas de incubación, turbidez y cambio de color a amarillo por la formación del ácido a consecuencia de la fermentación de azúcar. En caso de que las esporas estén sólo dañadas en parte, el desarrollo de los bacilos podrá retenerse.

El contenido de las ampolletas de control también se vuelve turbio y el color vira a amarillo.

## 5. RESULTADOS

## VALIDACIÓN EN AUTOCLAVE

Presión (Lbs.)	Temperatura °C	Tiempo	Reacción Química Cinta testigo Masking- T.
15	121	30	+++
15	121	15	+++
15	121	5	---
13	119	30	+++
11	116	30	---
9	114	30	---

## VALIDACIÓN EN AUTOCLAVE

Presión (Lbs.)	Temperatura °C	Tiempo	Indicador Biológico Spor dex
15	121	30	+++
15	121	15	+++
15	121	5	+++
13	119	30	+++
11	116	30	+++
9	114	30	+++

## VALIDACIÓN DEL AUTOCLAVE

Presión (Lbs.)	Temperatura °C	Tiempo	Reacción Física Timecard
15	121	30	+++
15	121	15	---
15	121	5	---
13	119	30	+++
11	116	30	---
9	114	30	---

## VALIDACIÓN DEL HORNO

Temperatura °C	Tiempo (Hrs.)	Indicador Biológico Tubo con esporas
180	2	+++
180	1.5	+++
180	1	+++
180	1/2	---
150	2	+++
130	2	+++
100	2	+++
90	2	+++

**CONCLUSIONES :**

El método de prueba debe elegirse según el material en examen. Durante la prueba no deben actuar agentes destructores de gérmenes sobre el material en examen (luz ultravioleta, aerosoles, agentes desinfectantes y otros).

En el área donde se realizan los ensayos de esterilidad, el personal debe utilizar la vestimenta para los ensayos de esterilidad; debe tener equipos de renovación de aire y aire acondicionado; el material debe estar previamente esterilizado y el equipo que no se ocupa se guarda en anaqueles con lámparas ultravioleta de alta intensidad.

Seleccionar los indicadores biológicos para determinar la efectividad de la esterilización y controlar todo tipo de carga de las autoclaves para el éxito de la esterilización.

El uso de indicadores biológicos requiere completo conocimiento del producto en que se va a utilizar, así como de sus componentes (materias primas y envases) y de los tipos y número de colonias microbianas estimadas que lo contaminan.

La selección satisfactoria de un indicador biológico es muy importante, se necesita conocer perfectamente su resistencia al método específico de esterilización que se va a emplear, ya que un microorganismo puede ser sumamente resistente al calor y sin embargo, no ser conveniente para probar la efectividad de los procesos de esterilización que se efectúan por medio de gas o radiación. En todo caso, se debe usar aquel indicador que presente gran resistencia a un método determinado y además, es indispensable asegurarse que no contenga sustancias que afectan dicha resistencia.

En la validación de hornos y autoclaves, cuando los indicadores biológicos no viran al color clave significa que algún o algunos parámetros físicos o químicos no son correctos; cuando viran al color clave significa que la esterilización es correcta.

En la validación del área estéril y del área donde se realizan las pruebas de esterilidad, las placas de agar y los tubos de ensayo conteniendo Trypticaseína estéril, si muestran signos de crecimiento significa que existe un punto de contaminación; si no existe crecimiento, significa que la esterilidad del área, equipo, personal y método de ensayo son correctos.

Los indicadores biológicos tienen un tiempo, una temperatura y una presión determinada para virar de color, sino cumplen con los parámetros establecidos no se efectúa una prueba de validación correcta.

Los métodos de validación para cualquier actividad de la vida, son necesarios más aún tratándose de la fabricación de medicamentos que sirven para curar o prevenir una enfermedad.

Se recomienda el uso mancomunado de bioindicadores o indicadores físicos y químicos, a fin de poder garantizar que él o los equipos que se usan para realizar la operación de esterilización, cumpla con tal fin.

Se recomienda que estos procedimientos estén por escrito y con un calendario bien establecido.

Los supervisores y operadores deberán estar perfectamente entrenados y conscientes de la importancia de las operaciones que se realizan en una área estéril, especialmente cuando se trabajan productos termolábiles.

El sistema de aire se encontrará calificado y validado una vez cumpliendo como mínimo con lo anteriormente expuesto.

A su vez, la Validación del sistema deberá calendarizarse como parte de los estatutos de validación que marcan que debe mantenerse bajo control.

Si el sistema llega a tener cambios, estos deben documentarse por medio del control de cambios y evaluar si el cambio obedece a una recalificación y revalidación.

Al realizar estos estudios, se debe emitir un reporte, el cual puede sustentar la aprobación de las autoridades correspondientes.

El método más efectivo para asegurar la calidad del aire suministrado es a través de un estricto programa de monitoreo al sistema (límites de alerta y acción).

## VI LEGISLACION FARMACEUTICA

NORMA OFICIAL MEXICANA NOM - 059 - SSA1 - 1993, BUENAS PRÁCTICAS DE FABRICACIÓN PARA ESTABLECIMIENTOS DE LA INDUSTRIA QUÍMICO FARMACÉUTICA DEDICADOS A LA FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS.

### CONSIDERANDO

14 de diciembre de 1994, en cumplimiento de lo previsto en el artículo 46 fracción I de la Ley Federal sobre Metrología y Normalización, la Dirección General de Insumos para la Salud. Presentó el anteproyecto de la presente Norma Oficial Mexicana.

24 Noviembre 1995, se publicó en el Diario Oficial de la federación el proyecto de la presente Norma, a efecto de que dentro de los siguientes noventa días naturales posteriores a dicha publicación, los interesados presentaran sus comentarios al Comité Consultivo Nacional de Normalización de Regulación y Fomento Sanitario.

### INTRODUCCIÓN :

La salud es un factor de suma importancia para el bienestar y desarrollo social de la comunidad, por lo que corresponde al Ejecutivo Federal a través de la Secretaría de Salud, establecer los requisitos que se deben cumplir durante el proceso de fabricación de los medicamentos que garantice la calidad de los mismos.

### OBJETIVO Y CAMPO DE APLICACIÓN :

Esta Norma Oficial Mexicana establece los requisitos mínimos necesarios para el proceso de los medicamentos y/o productos biológicos comercializados en el país, con el objeto de proporcionar medicamentos de calidad al consumidor.

### 5. ORGANIZACIÓN DE UN ESTABLECIMIENTO :

5.6 El encargado del área de producción se encargará de realizar las siguientes funciones, sin perjuicio de las obligaciones y responsabilidades que correspondan al responsable sanitario, conforme a la Ley General de Salud y al Reglamento de Insumos para la Salud.

5.6.3 Que se lleven a cabo estudios de validación de los procesos de fabricación y de los sistemas involucrados.

5.7 El encargado del área de calidad se encargará de realizar las siguientes funciones, sin perjuicio de las obligaciones y responsabilidades que correspondan al responsable sanitario, conforme a la Ley General de Salud y al Reglamento de Insumos para la Salud.

5.7.4. Que se lleven a cabo estudios de validación de los procesos de fabricación y de los sistemas involucrados.

### 9.5 CONTROL DE PRODUCCIÓN.

9.5.2.6.4 Después de sanitizar los sistemas de agua por medios químicos debe seguirse un procedimiento validado a fin de garantizar que el agente sanitizante ha sido eliminado.

### 9.5.3. CONTROL DE LA PRODUCCIÓN DE FORMAS FARMACÉUTICAS ESTÉRILES.

9.5.3.1 La producción de formas farmacéuticas estériles debe realizarse en áreas limpias a las que el personal, el producto y/o los materiales ingresen o salgan cumpliendo con los requisitos que establezca el PNO correspondiente a fin de evitar contaminación.

9.5.3.2 Las áreas limpias deben mantenerse con el grado de limpieza que corresponda a su clasificación, recibiendo aire que haya pasado a través de filtros con el grado de eficiencia establecido en el diseño y construcción.

9.5.3.3 Las diversas operaciones de preparación de materiales y productos, llenado y esterilización, deben realizarse en zonas separadas dentro del área limpia.

9.5.3.4 Los procesos de esterilización deben estar validados.

9.5.3.5 En áreas limpias debe estar presente el mínimo de personas necesarias; esto es especialmente importante durante los procesos asépticos, en cuyo caso y en la medida de lo posible, deben inspeccionarse y controlarse desde el exterior.

9.5.3.6 El equipo, los sistemas de aire, agua y esterilización, deben ser objeto de mantenimiento y calificación de manera periódica y documentada.

### 9.11. VALIDACIÓN :

9.11.1 Los procesos de producción deben ser validados en base a protocolos que tomen en cuenta los aspectos de :

9.11.2 Personal, áreas, materias primas, equipo y sistemas generales. El grado y alcance del trabajo de validación dependerá de la naturaleza y complejidad del producto y proceso involucrado.

9.11.3 Los métodos analíticos deben ser validados, de acuerdo con lo establecido en el apartado de "Control del laboratorio analítico"

9.11.4 Los sistemas críticos y equipo de producción y acondicionamiento deben ser calificados de acuerdo con protocolos que tomen en cuenta su diseño, construcción, instalación y operación.

9.11.5 La documentación relativa a los estudios de validación debe estar completa, ordenada y disponible.

9.11.6 Debe existir un sistema de control de cambios que regule las modificaciones que puedan afectar la calidad del producto y/o la reproducibilidad del proceso, método o sistema.

9.11.7 Los procesos deben ser objeto de revalidación en base a políticas que establezca la empresa, para garantizar que siguen siendo capaces de proporcionar los resultados previstos

## 9.12 CONTROL DEL LABORATORIO ANALITICO

9.12.1 Se debe contar con especificaciones escritas para la evaluación de cada lote de materia prima, producto a granel, material de acondicionamiento y producto terminado.

9.12.2 Se debe contar con PNO's para el muestreo de materia prima, producto a granel, material de acondicionamiento y producto terminado.

9.12.3 Se debe contar con métodos de análisis validados para producto a granel, producto terminado y materia prima en caso de no aparecer en cualquier farmacopea internacional ni en la FEUM.

9.12.4 Se debe contar con métodos de prueba para el material de acondicionamiento.

9.12.5 Se debe contar con un programa de calibración de instrumentos de medición.

9.12.6 Se deben realizar los estudios de estabilidad, de acuerdo con lo requerido por la NOM - 073 - SSA1 - 1993

9.12.5. Deben conservarse muestras de retención representativas de cada lote de producto, así como de cada uno de los materiales involucrados en la fabricación de éste.

El tiempo de retención debe ser de cuando menos 1 año después de su fecha de caducidad.

9.12.6 Deben existir PNO's para la limpieza, mantenimiento y operación de cada uno de los instrumentos y equipos del laboratorio analítico que contemplen los registros correspondientes.

9.12.7 Los reactivos deben prepararse de acuerdo con la FEUM y suplementos vigentes. En caso de que en ésta no aparezca la información, podrá recurrirse a farmacopeas de otros países cuyos procedimientos de análisis se realicen conforme a especificaciones de organismos especializados u otra bibliografía científica reconocida internacionalmente.

9.12.8 La etiqueta de los reactivos debe indicar como mínimo : nombre, fecha de preparación, nombre de quién lo preparó, referencia de su registro, concentración, factor de valoración, caducidad, condiciones de almacenamiento, fecha de revaloración y fecha de recepción cuando se compren preparados.

9.12.9 Las sustancias de referencias primaria y secundarias deben fecharse, almacenarse, manejarse y utilizarse de manera que no afecte su calidad. Se debe registrar el origen, identidad, cualquier información relativa a su preparación y caracterización, la fecha en que se usa y su vida útil.

9.12.10 Los medios de cultivo deben prepararse de acuerdo con la FEUM y suplementos vigentes. En caso de que en ésta no aparezca la información, podrá recurrirse a farmacopeas de otros países cuyo procedimiento de análisis se realicen conforme a especificaciones de organismos especializados u otra bibliografía científica reconocida internacionalmente.

9.12.11 Deben utilizarse controles negativos y positivos como testigos durante el uso de los medios de cultivo.

#### OBSERVACIONES DE LA NORMA :

Esta Norma Oficial Mexicana es de observancia obligatoria en los establecimientos dedicados al proceso de los medicamentos y/o productos biológicos comercializados en el país, con el objeto de proporcionar medicamentos de calidad al consumidor.

Corresponde a la SSA, a través de la DGIS, la vigilancia del cumplimiento de las disposiciones de la presente norma, cuyo personal realizará los trabajos de verificación necesarios.

#### REGLAMENTACIONES PARA SISTEMAS CRITICOS :

- \* NOM 059 -SSA1 - 1993
- \* GUÍA DE VERIFICACIÓN SANITARIA
- \* FEUM 5ª EDICIÓN
- \* FDA
- \* USP 23 (5º Suplemento)

#### GUÍA PARA VERIFICACIÓN SANITARIA

##### 9.11 VALIDACIÓN

##### 9.11.5 ¿Están calificados los sistemas críticos ?

¿Cuentan con protocolos específicos y evidencia documentada ?

- Generalidades
- Tipos de agua
- Control microbiológico de agua empleada como aditivo.
- Monografías.
- Tablas

#### FEUM 5ª EDICIÓN

##### Monografías

- Agua de alta pureza (Reactivo).
- Agua Purificada
- Agua Inyectable
- Agua para la fabricación de Inyectables.
- Agua estéril para irrigación.

**FDA**

**GUIDE TO INSPECTIONS OF HIGH PURITY WATER SYSTEMS (JULY 93)**

- Diseño de Sistemas
- Validación de Sistemas.
- Límites Microbiológicos.
  - Agua para la fabricación de inyectables.
  - Agua Purificada
- Sistemas de agua para a fabricación de inyectables.
- Destiladores.
- Intercambiadores de Calor
- Tanques de Almacenamiento.
- Bombas.
- Tuberías.
- Osmosis Inversa.
- Sistemas de agua Purificada.
- Agua de proceso.
- Estrategia de Inspección.

**USP - NF SUPLEMENTO 5**

**AGUA PARA USO FARMACEUTICO < 1231 >**

- < Tipos de agua.
- < Validación y Calificación para sistemas de Purificación, Almacenamiento y Distribución de agua.
- < Sistemas de Agua Farmacéuticos.
- < Agua Purificada y para la Fabricación de Inyectables.
- < Instalación, Materiales de Construcción y Selección de Componentes.
- < Sanitización.
- < Operación, Mantenimiento y Control.
- < Consideraciones de Muestreo.
- < Consideraciones Microbiológicas.

**AGUA PARA USO FARMACÉUTICO < 1231 >**

**\* TIPOS DE AGUA**

- Agua Potable
- Agua Purificada
- Agua Purificada Estéril.
- Agua para la Fabricación de inyectables.
- Agua para la Fabricación de Inyectables Estéril.
- Agua Bacteriostática estéril inyectable.
- Agua Estéril para irrigación.

★ AGUA PURIFICADA Y PARA LA FABRICACIÓN DE INYECTABLES (PROCESOS DE PURIFICACIÓN)

- Filtración.
- Filtros de Carbón Activado.
- Aditivos Químicos.
- Suavizadores.
- Deionización, Electrodeionización y Electrodialisis.
- Osmosis Inversa.
- Ultrafiltración.
- Filtros de Retención Microbiana.
- Destilación.
- Tanques de Almacenamiento.
- Distribución.

**USP - NF SUPLEMENTO 5**

**PRUEBAS FISICAS**

- Carbono Orgánico Total. Capítulo < 643 >
- Conductividad. Capítulo < 645 >

## VII.- ANEXOS :

TABLA I  
PROGRAMA DE MUESTREO DE AGUA

## VALIDACIÓN

LOCALIZACIÓN PUNTO DE MUESTREO	COMPONENTE	FRECUENCIA
Agua potable	Cuenta microbiana Cloro residual (STD) químicos Químicos totales pH	Diario Diario Diario Semanal Diario
Filtro de arena	Cuenta microbiana Cloro residual	Diario Diario
filtro de carbón	Cuenta microbiana Cloro residual	Diario Diario
Sistema de Intercambio iónico	Conductividad Sólidos totales pH Cuenta Microbiana Pirógenos Silice coloidal y disuelto Análisis de resinas	Continúa Diario Diario Diario Diario Diario Inicial.
Equipo de destilación u ósmosis inversa	Cuenta microbiana  Pirógenos pH Conductividad Químicos  Condensado (STD) Partículas	Múltiples corridas (3) por ciclo    Continúa Múltiples corridas (3) por ciclo
Tanque de almacenamiento	Cuenta microbiana Pirógenos pH Químicos (USP)	Múltiples corridas
Red de distribución	Cuenta microbiana Pirógenos Químicos (STD) Químicos totales Partículas pH	Diario Diario Diario Semanal Diario Semanal
Vapor	Condensado (STD)	Diario

tabla 2

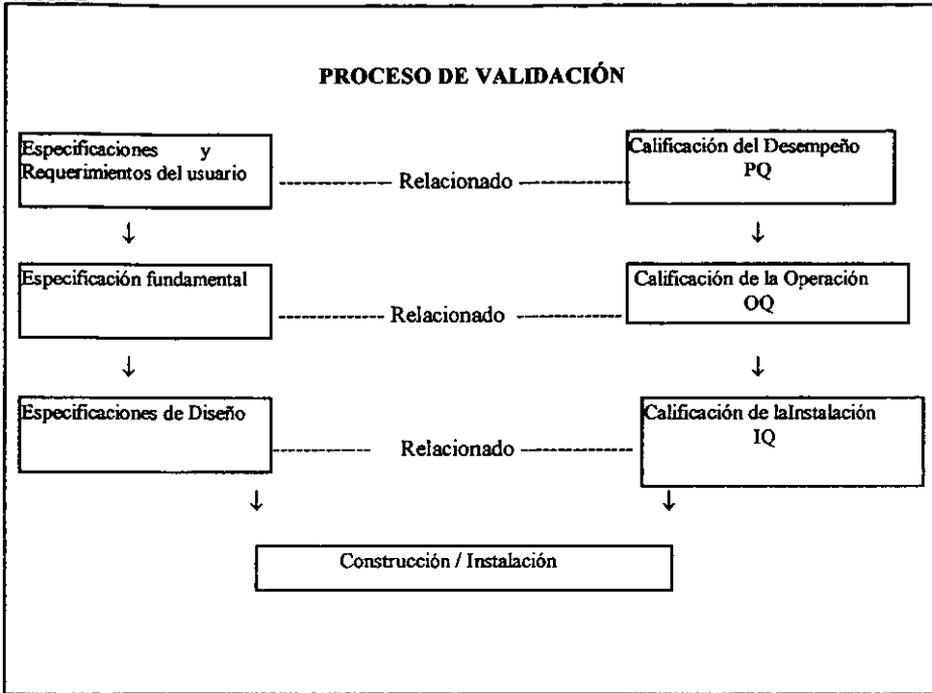


Tabla 3

## PROCESO DE VALIDACIÓN

PLANEACIÓN	Escribir el Plan de Validación.
ESPECIFICACIONES	Definir los criterios de aceptación
PLAN DE PRUEBAS IQ, OQ, PQ	Preparar los documentos que describan las pruebas a llevar a cabo.
PRUEBAS IQ, OQ, PQ	LLevar a cabo las pruebas y coleccionar los datos
REVISIÓN	Revisar los resultados, determinar que el elemento a validar cumple con los criterios de aceptación.

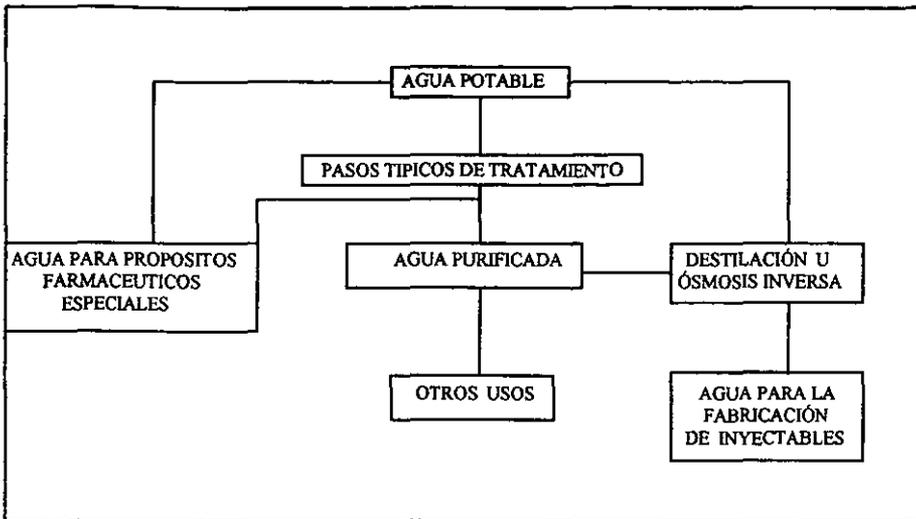
TABLA 4

## CLASIFICACIÓN DE AREAS :

PARTICULAS	CLASE 100 AREA CRITICA ASEPTICA (BAJO FLUJO UNIDIRECCIONAL)	3530 / m <sup>3</sup>
NO VIABLES	CLASE 10,000 AREA CRITICA ASEPTICA (FUERA DE FLUJO UNIDIRECCIONAL)	353,000 / m <sup>3</sup>
Partículas de 0.5 micras y mayores	CLASE 100,000 (AREA LIMPIA)	3,530,000 / m <sup>3</sup>
PARTICULAS VIABLES	CLASE 100 AREA CRITICA ASEPTICA (BAJO FLUJO UNIDIRECCIONAL)	< 3 / m <sup>3</sup>
	CLASE 10,000 AREA ASEPTICA (FUERA DE FLUJO UNIDIRECCIONAL)	< 20 / m <sup>3</sup>
	CLASE 100,000 (AREA LIMPIA)	< 100 m <sup>3</sup>
TEMPERATURA	18 A 23 ° C	
HUMEDAD RELATIVA	30 - 60 %	
CAMBIO DE AIRE/HORA	NO MENOS DE 20	
VELOCIDAD DE FLUJO DE AIRE EN AREA CRITICA ASEPTICA (BAJO FLUJO UNIDIRECCIONAL)	27 m / min ± 20 %	
PRESIÓN DIFERENCIAL	NO MENOS DE 0.05 cm de columna de agua entre áreas asépticas. NO MENOS DE 0.12 cm de columna de agua entre aséptica y no aséptica.	
La presente Norma entrará en vigor con carácter obligatorio a los 180 días de su publicación en el Diario Oficial de la Federación. México, D.F. 15 Junio 1998.		

Tabla 5

## AGUA PARA USO FARMACEUTICO



## AGUA PARA USO FARMACEUTICO

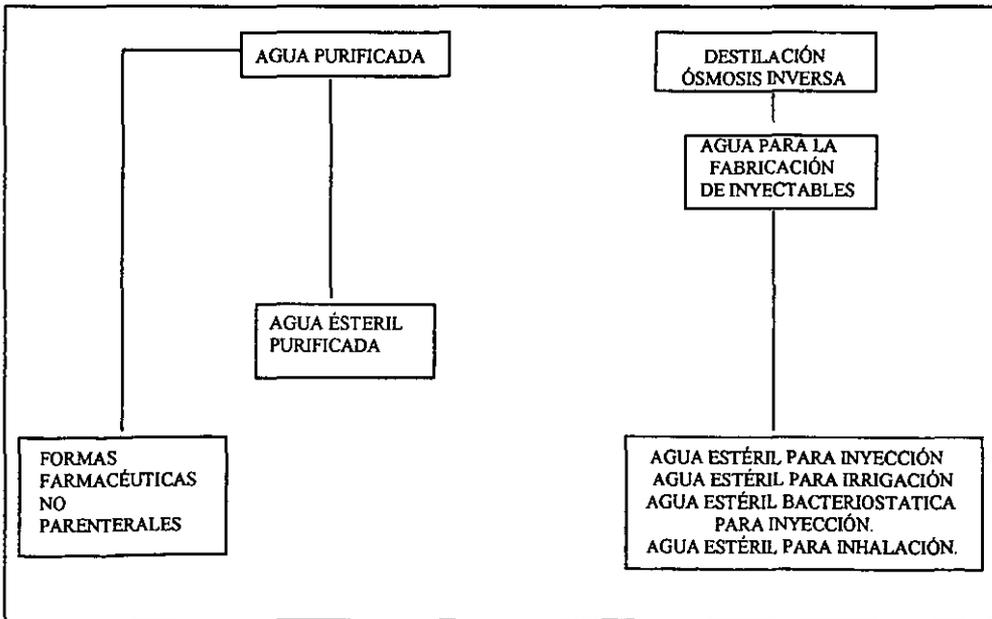


Tabla 6

## AGUA PURIFICADA

PRUEBA	ACTUAL	PROPUESTA
PH	5.0 - 7.0	
Cloruros	0.5 ppm	Reemplaza por Conductividad
Sulfatos	1 ppm	Reemplaza por Conductividad
Amonio	0.01 ppm	Reemplaza por Conductividad
Calcio	1 ppm	Reemplaza por Conductividad
CO <sub>2</sub>	5 ppm	Reemplaza por Conductividad
Metales Pesados	0.1 como Cu	Elimina
Sustancias Oxidables.	Satisface	Reemplaza por TOC
Sólidos Totales.	10 ppm	Elimina
TOC	N/A	500 ppm
Conductividad	N/A	1.1 micra
Cuenta Bacteriana	100 cfu/ml	100 cfu / ml

**DEFINICIONES :**

**ACABADO SANITARIO :** Son las superficies interiores de las áreas con la finalidad de evitar la acumulación de partículas viables y no viables y facilitar su limpieza.

**ACONDICIONAMIENTO :** Son las operaciones por las que un producto a granel tiene que pasar para llegar a ser un producto terminado.

**AGUA PURIFICADA :** Es agua que puede ser obtenida por destilación, ósmosis inversa, tratamiento por intercambio iónico u otro método apropiado, no contiene sustancias que le hayan sido añadidas.

**AGUA PARA LA FABRICACIÓN DE INYECTABLES :** Es agua purificada por destilación o por ósmosis inversa y a la que no se ha añadido sustancia alguna.

**AGUA RESIDUAL DE LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA :** Agua descargada resultante de las actividades relacionadas con la fabricación de medicamentos.

**AREA :** Cuarto o conjunto de cuartos y espacios diseñados y construidos bajo especificaciones definidas.

**ÁREA ASEPTICA :** Zona comprendida dentro de una área limpia, diseñada y construida para minimizar la contaminación por partículas viables y no viables, manteniéndola dentro de los límites preestablecidos.

**AREA CRÍTICA ASEPTICA :** Zona dentro del área aseptica en la cual el producto, los recipientes y/o los dispositivos de cierre esterilizados, están expuestos al medio ambiente.

**AREA LIMPIA :** Área diseñada, construida y mantenida con el objeto de tener dentro de límites el número de partículas viables y no viables en superficies y medio ambiente.

**ASEGURAMIENTO DE CALIDAD :** Conjunto de actividades planeadas y sistemáticas que lleva a cabo una empresa, con el objeto de brindar la confianza, de que un producto o servicio cumple con los requisitos de calidad especificados.

**BIOCARGA :** Concentración de UFC presentes en un elemento determinado.

**BUENAS PRACTICAS DE FABRICACIÓN :** Conjunto de lineamientos y actividades relacionadas entre sí, destinadas a garantizar que los productos farmacéuticos elaborados tengan y mantengan la identidad, pureza, concentración, potencia e inocuidad, requeridas para su uso.

**CALIDAD :** cumplimiento de especificaciones establecidas para garantizar la aptitud de uso.

**CONCENTRACIÓN :** Cantidad del fármaco presente en el medicamento expresada como peso/peso, peso/volumen o unidad de dosis /volumen.

**CONTAMINACIÓN :** presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables.

**CONTAMINACIÓN CRUZADA** : Presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables, procedentes de otros procesos de fabricación.

**RETENCIÓN TEMPORAL** : Los productos, materias primas o materiales de acondicionamiento se retienen temporalmente, con el fin de verificar si se encuentran dentro de las especificaciones de calidad establecidas y la regulación correspondiente.

**ESPECIFICACIÓN** : Descripción de un material, sustancia o producto, que incluye los parámetros de calidad, sus límites de aceptación y la referencia de los métodos a utilizar para su determinación.

**ETIQUETA** : Cualquier marbete, rótulo, marca o imagen gráfica escrita, impresa, estarcida, marcada, marcada en relieve o en hueco grabado, adherido o precintado en cualquier material susceptible a contener el medicamento incluyendo el envase mismo, en caracteres legibles e indelebles.

**FABRICACIÓN** : Operaciones involucradas en la producción de un medicamento desde la recepción de materiales hasta su liberación como producto terminado.

**FÁRMACO** : Sustancia natural o sintética que tenga alguna actividad farmacológica y que se identifique por sus propiedades físicas, químicas o acciones biológicas, que no se presenten en forma farmacéutica y que reúna condiciones para ser empleada como medicamento o ingrediente de un medicamento.

**LOTE** : Cantidad de un fármaco o medicamento, que se produce en un ciclo de fabricación y cuya característica esencial es su homogeneidad.

**MATERIA PRIMA** : Sustancia de cualquier origen que se use para la elaboración de medicamentos o fármacos.

**MEDICAMENTO** : Toda sustancia o mezcla de sustancias de origen natural o sintético que tenga efecto terapéutico, preventivo o rehabilitatorio, que se presente en forma farmacéutica y se identifique como tal por su actividad farmacológica, características físicas, químicas y biológicas.

**NÚMERO DE LOTE** : Combinación alfanumérica que identifica específicamente un lote.

**PARTÍCULAS VIABLES** : Cualquier partícula que bajo condiciones ambientales apropiadas puede reproducirse.

**PRODUCTO** : Es el resultado de un proceso específico.

**PRODUCTO A GRANEL** : Producto que ha cubierto todas las etapas del proceso de producción y que será sometido a etapas posteriores de acondicionamiento antes de convertirse en producto terminado.

**PRODUCTO INTERMEDIO** : Material parcialmente procesado que será sometido a etapas posteriores de producción antes de convertirse en productos a granel.

**PRODUCTO TERMINADO** : Medicamento en su presentación final.

**PUREZA** : Grado en el cual las materias primas, los productos intermedios y a granel, están exentos de materiales extraños.

**VALIDACIÓN** : Es la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones y los atributos de calidad establecidos.

### **SIMBOLOS Y ABREVIATURAS**

- BPF** Buenas prácticas de fabricación.
- DGIS** Dirección general de insumos para la salud.
- FEUM** Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.
- LNSP** Laboratorio Nacional de Salud Pública
- NOM** Norma Oficial Mexicana.
- LGS** Ley General de Salud.
- OMS** Organización Mundial de la Salud.
- PNO** Procedimiento Normalizado de Operación.
- SEMARNAP** Secretaría del Medio Ambiente, Recursos Naturales y Pesca.
- SSA** Secretaría de Salud.
- UFC** Unidades Formadoras de Colonias.

## X. BIBLIOGRAFIA.

ANSI/ASQC 01 - 1988. Generic guidelines for auditing of quality systems.

Breach, M.R., Sterilization Methods And Control Of Dry Heat., London Butter Worths, p 175 - 179., (1978)

Brewer, H.J. and A.E. Humphrey, The Control Of Sterilization Procedures With Thermophilic Sporofomors., ASB, p 61-72 ((1979)

Brewer, J.J., C.B. McLaughlin, The Control Of Sterilized, P 17 - 25., (1979)

Buenas Prácticas De Fabricación Para Establecimientos De La Industria Químico Farmacéutica Dedicados a La Fabricación De Medicamentos. NOM-OSG - SSAI - 1993 Versión Final- SSA 12

Cattori, D.B., Manual De Áreas Estériles, Asociación Farmacéutica Mexicana, A.C., P 4-7 (1974)

CFR 1996 ( Code Of Federal Regulations), Title 21 ; Part 58, Good Laboratory Practice For Nonclinical Laboratory Studies. Washington, D.C., Office Of Federal Register.

Comisión Interinstitucional De Practicas Adecuadas De Manufactura ; Guía De Procedimientos Adecuados De Limpieza De Material Analítico, Monografía Técnica No. 3 ; 1991

Costin, I. D., Y J. Grige., Bioindicadores Para Control De Esterilización, Separata De Kontakte 2/74, P 33-39., (1979)

Evaluación Y Validación De Sistemas Criticos En Áreas Asépticas. Asociación Farmacéutica Politécnica, A.C (1992).

Farmacopea De Los Estados Unidos Mexicanos, 6a Edición ; Secretaría De Salud, México, D.F. 1994.

Farmacopea Nacional De Los Estados Unidos Mexicanos, Cuarta Edición, México., P 868 -871, 114 - 117., (1974)

Filtros Asépticos Y Sistemas De Generación De Agua Calidad Inyectable., Organización Gold Y Grupo Roussel, S.A. México, D.F. 1991

Filtros Asépticos Y Sistemas De Generación De Agua Calidad Inyectable, Octubre 1991.

Fullerton, E., P.D.Cook., E.W. Martín., "Esterilización", Farmacia Practica Rémington, Editorial Hispano Americana., P 131 - 150., (1975)

Gentry, V., "Área Estéril", Manual De Áreas Estériles., Asociación Farmacéutica Mexicana, P 2-5., (1974)

Glosario De Términos Especializados Para La Evaluación De Medicamentos. Versión Preliminar (Octubre 1990) (OMS).

Guía De Prácticas Adecuadas De Manufactura Para Cuartos Limpios ;Monografía Técnica No. 1, México 1989

Guías De Prácticas Adecuadas De Fabricación Para Cuartos Limpios. Monografía Técnica No. 1 México. (1992).

Guías De Procedimientos Adecuados De Limpieza De Material Analítico. Monografía Técnica No. 3 México (1991).

Guías Generales De Validación. SSA (1989).

Ley General De Salud (1997)

National Formulary XIV. , Published By The American Pharmaceutical Association. "Sterility Test" P 971 - 1056 ., (1975)

NMX - Cc - 1 - 1990 Sistemas De Calidad Vocabulario.

NMX -Cc - 2 1990. Sistema De Calidad - Gestión De Calidad. Guía Para La Selección, El Uso De Normas De Aseguramiento De Calidad.

Normas De La SEDUE : Secretaría De Desarrollo Urbano Y Ecología (SEDUE

Remingtons Pharmaceutical Sciences Anderson N, Fifteenth Edition,

"Steam Sterilization" . , P 1390 - 1399 . , (1975)

Sterity Testing With The Membrane Filter . , Catalog No. Lam 2010/U . , Printed In U.S.A . , P 24 - 26 ., (1973)

Suplemento 1 Farmacopea De Los Estados Unidos Mexicanos, Sexta Edición, México (1995).

United States Pharmacopeia, 18 Th Rev., Easten, Pa . , P 851 - 857 . , (1970).