



Universidad de San Carlos de Guatemala
Facultad de Ingeniería
Escuela de Ingeniería Química

**DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CONTROL DE UN AUTOCLAVE PARA LA
ESTERILIZACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE BAJO VOLUMEN**

Iris Iveth Hernández Canales

Asesorada por la Inga. Hilda Piedad Palma de Martini

Guatemala, febrero de 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA



FACULTAD DE INGENIERÍA

**DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CONTROL DE UN AUTOCLAVE
PARA LA ESTERILIZACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE BAJO
VOLUMEN**

TRABAJO DE GRADUACIÓN

PRESENTADO A LA JUNTA DIRECTIVA DE LA
FACULTAD DE INGENIERÍA
POR

IRIS IVETH HERNÁNDEZ CANALES

ASESORADA POR LA INGA. HILDA PIEDAD PALMA DE MARTINI

AL CONFERÍRSELE EL TÍTULO DE

INGENIERA QUÍMICA

GUATEMALA, FEBRERO DE 2017

UNIVERSIDAD DE SAN CARLOS DE GUATEMALA
FACULTAD DE INGENIERÍA



NÓMINA DE JUNTA DIRECTIVA

| | |
|------------|--|
| DECANO | Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco |
| VOCAL I | Ing. Angel Roberto Sic García |
| VOCAL II | Ing. Pablo Christian de León Rodríguez |
| VOCAL III | Ing. José Milton de León Bran |
| VOCAL IV | Br. Jorgen Andoni Ramírez Ramírez |
| VOCAL V | Br. Oscar Humberto Galicia Nuñez |
| SECRETARIA | Inga. Lesbia Magalí Herrera López |

TRIBUNAL QUE PRACTICÓ EL EXAMEN GENERAL PRIVADO

| | |
|-------------|--|
| DECANO | Ing. Alfredo Enrique Beber Aceituno a.i. |
| EXAMINADOR | Inga. Hilda Piedad Palma de Martini |
| EXAMINADORA | Ing. Jorge Mario Estrada Asturias |
| EXAMINADOR | Ing. Víctor Manuel Monzón Valdez |
| SECRETARIO | Ing. Hugo Humberto Rivera Pérez |

HONORABLE TRIBUNAL EXAMINADOR

En cumplimiento con los preceptos que establece la ley de la Universidad de San Carlos de Guatemala, presento a su consideración mi trabajo de graduación titulado:

DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CONTROL DE UN AUTOCLAVE PARA LA ESTERILIZACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE BAJO VOLUMEN

Tema que me fuera asignado por la Dirección de la Escuela de Ingeniería Química, con fecha 24 de septiembre de 2012.



Iris Iveth Hernández Canales



Guatemala, 26 de mayo 2016

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
Facultad de Ingeniería
Director Escuela de Ingeniería Química

De manera atenta me dirijo a usted para informarle que la estudiante Iris Iveth Hernández Canales con carnet 2004 13157, realizó el Informe Final de Trabajo de Graduación, titulado: **Determinación de parámetros de control de un autoclave para la esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen**, el cual ha sido revisado y asesorado por mi persona y cumple con los requerimientos correspondientes, de tal manera apruebo y firmo el presente documento para todos los trámites exigidos por las leyes y estatutos de la universidad para que pueda realizar la defensa del mismo.

Agradeciendo la atención a la presente, le saluda respetuosamente,

Inga. Hilda Piedad Palma Ramos
Colegiado No. 453
Profesora Titular V
Universidad de San Carlos de Guatemala



INGA. HILDA PALMA DE MARTINI
COLEGIADO No. 453





Guatemala, 05 de septiembre 2016.
Ref. EIQ.TG-IF.048.2016.

Ingeniero
Carlos Salvador Wong Davi
DIRECTOR
Escuela de Ingeniería Química
Facultad de Ingeniería

Estimado Ingeniero Wong:

Como consta en el registro de evaluación del informe final EIQ-PRO-REG-007 correlativo 055-2012 le informo que reunidos los Miembros de la Terna nombrada por la Escuela de Ingeniería Química, se practicó la revisión del:

INFORME FINAL DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

Solicitado por la estudiante universitaria: **Iris Iveth Hernández Canales.**
Identificada con número de carné: **2004-13157.**
Previo a optar al título de **INGENIERA QUÍMICA.**

Siguiendo los procedimientos de revisión interna de la Escuela de Ingeniería Química, los Miembros de la Terna han procedido a **APROBARLO** con el siguiente título:

**DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CONTROL DE UN AUTOCLAVE PARA LA
ESTERILIZACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE BAJO VOLUMEN**

El Trabajo de Graduación ha sido asesorado por la Ingeniera Química: **Hilda Piedad Palma Ramos de Martini.**

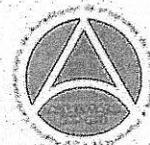
Habiendo encontrado el referido informe final del trabajo de graduación **SATISFACTORIO**, se autoriza al estudiante, proceder con los trámites requeridos de acuerdo a las normas y procedimientos establecidos por la Facultad para su autorización e impresión.

"ID Y ENSEÑAD A TODOS"

(Handwritten signature)
Ing. Manuel Gilberto Galván Estrada
COORDINADOR DE TERNA
Tribunal de Revisión
Trabajo de Graduación



C.c.: archivo





Ref.EIQ.TG.006.2017

El Director de la Escuela de Ingeniería Química de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer el dictamen del Asesor y de los Miembros del Tribunal nombrado por la Escuela de Ingeniería Química para revisar el Informe del Trabajo de Graduación de la estudiante, **IRIS IVETH HERNÁNDEZ CANALES** titulado: **“DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CONTROL DE UN AUTOCLAVE PARA LA ESTERILIZACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE BAJO VOLUMEN”**. Procede a la autorización del mismo, ya que reúne el rigor, la secuencia, la pertinencia y la coherencia metodológica requerida.

“Id y Enseñad a Todos”

Ing. Carlos Salvador Wong Davi
Director
Escuela de Ingeniería Química



Guatemala, febrero 2017

Cc: Archivo
CSWD/ale

Universidad de San Carlos
de Guatemala

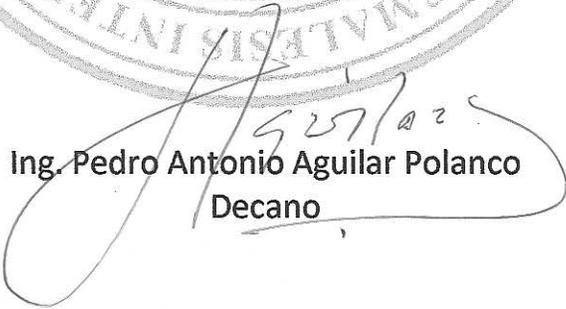


Facultad de Ingeniería
Decanato

DTG. 098.2017

El Decano de la Facultad de Ingeniería de la Universidad de San Carlos de Guatemala, luego de conocer la aprobación por parte del Director de la Escuela de Ingeniería Química, al Trabajo de Graduación titulado: **DETERMINACIÓN DE PARÁMETROS DE CONTROL DE UN AUTOCLAVE PARA LA ESTERILIZACIÓN DE SOLUCIONES PARENTERALES DE BAJO VOLUMEN**, presentado por la estudiante universitaria: **Iris Iveth Hernández Canales**, y después de haber culminado las revisiones previas bajo la responsabilidad de las instancias correspondientes, autoriza la impresión del mismo.

IMPRÍMASE:


Ing. Pedro Antonio Aguilar Polanco
Decano

Guatemala, febrero de 2017

/gdech



ACTO QUE DEDICO A:

- Dios** Padre que permites que sucedan todas las cosas, por tu sabiduría y fortaleza. Infinitas gracias.
- Mis padres** Juan Francisco Hernández y Sandra Canales de Hernández, por todo su amor, consejos y esfuerzo. Estoy muy agradecida.
- Mi esposo** Carlos Estuardo Motta Sánchez, por su apoyo, cariño y motivación para cumplir este sueño.
- Mis abuelos** Andrea Bonilla, Carlos Canales (Q.E.P.D), Juan Hernández (Q.E.P.D), Elvira Márquez (Q.E.P.D), por sus consejos y ejemplo en mi vida.
- Mis hermanos** Andrea Hernández, Juan Carlos Hernández e Inmar Hernández, por su cariño y ánimos para culminar este proyecto.
- Mis primos** Karla Canales, César Bustillo, Robert Canales, Alexandra Canales, Andrea Canales, Scarleth Bustillo, Nancy Canales, Cindy Canales, que mi meta sea un estímulo para cumplir las suyas.

Mis sobrinos

Fátima Caal, Gabriela Caal, Valentina Hernández, Renata Hernández y Javier Hernández (Q.E.P.D). Por su cariño, luchan por sus sueños.

Mis amigas

Elvia Yos, Janeth Hernández, Susana Yupe, Ileana Ramírez, Sara Montúfar, Zayra Godoy, Yessenia Díaz, Elidia Castillo y Lucía Montúfar. Gracias por su apoyo y consejos.

Mis tíos

Abdul Canales, Roxana Brizuela, Zonia Canales, Sergio Bustillo, Carlos Canales, Reina Canales, Marleny Canales, David Canales. Por su cariño y ánimos para seguir adelante.

AGRADECIMIENTOS A:

| | |
|---|--|
| Universidad de San Carlos de Guatemala | Casa de estudios, fuente de conocimientos, por formar profesionales con la esperanza de mejorar la sociedad. |
| Facultad de Ingeniería | Por todas las enseñanzas y vivencias, la mejor carrera que pude escoger. |
| Mis amigos de la Facultad | Carlos Cuá, Elmer Hernández, Krysta Salazar, gracias compañeros. Y por todos aquellos que durante la carrera fueron un gran apoyo. |
| Licda. Armida de Barillas | Por su apoyo durante la elaboración y culminación del presente trabajo. |
| Inga. Hilda Palma | Por su ayuda y asesoría para la elaboración de este proyecto. |
| Licda. Dalila Rodríguez | Por sus consejos y ayuda durante la elaboración de esta investigación. |
| Licda. Gabriela Cifuentes | Por su apoyo y participación en la elaboración de este proyecto. |

ÍNDICE GENERAL

| | |
|---|-------|
| ÍNDICE DE ILUSTRACIONES..... | VII |
| LISTA DE SÍMBOLOS | XI |
| GLOSARIO | XIII |
| RESUMEN..... | XVII |
| OBJETIVOS..... | XIX |
| HIPÓTESIS..... | XXIII |
| INTRODUCCIÓN | XXIX |
| | |
| 1. MARCO TEÓRICO..... | 1 |
| 1.1. Proceso de fabricación de soluciones parenterales de bajo volumen..... | 1 |
| 1.2. Esterilización | 1 |
| 1.2.1. Altas temperaturas para destrucción de microorganismos | 2 |
| 1.2.1.1. Calor húmedo | 2 |
| 1.2.1.2. Calor seco..... | 3 |
| 1.3. Autoclave..... | 3 |
| 1.3.1. Componentes frontales que conforman un autoclave | 4 |
| 1.3.2. Ventajas de un autoclave | 7 |
| 1.3.3. Funcionamiento de un autoclave | 7 |
| 1.3.4. Autoclave en la industria farmacéutica | 8 |
| 1.4. Parámetros de control del autoclave | 8 |
| 1.4.1. Temperatura de esterilización o de consigna | 8 |
| 1.4.2. Presión de operación..... | 9 |

| | | |
|----------|--|----|
| 1.4.3. | Tiempo de esterilización..... | 9 |
| 1.4.4. | Perfil de temperatura..... | 9 |
| 1.4.5. | Ciclo de esterilización..... | 9 |
| 1.4.5.1. | Tiempo de calentamiento..... | 10 |
| 1.4.5.2. | Tiempo letal de esterilización..... | 10 |
| 1.4.5.3. | Tiempo de enfriamiento..... | 10 |
| 1.4.5.4. | Tiempo total de esterilización..... | 11 |
| 1.4.6. | Punto frío..... | 11 |
| 1.5. | Soluciones parenterales de bajo volumen..... | 12 |
| 1.5.1. | Frycialgina..... | 12 |
| 1.6. | Control de esterilización..... | 14 |
| 1.6.1. | Controles físicos..... | 14 |
| 1.6.1.1. | Termopar o termocupla..... | 15 |
| 1.6.1.2. | Manómetros..... | 16 |
| 1.6.2. | Controles químicos..... | 16 |
| 1.6.2.1. | Ampolla química..... | 16 |
| 1.6.3. | Controles biológicos..... | 18 |
| 1.6.3.1. | Indicadores biológicos..... | 18 |
| 1.7. | <i>Data Logger</i> | 19 |
| 1.7.1. | Características principales..... | 20 |
| 1.7.2. | Aplicaciones..... | 20 |
| 1.8. | Cinética de destrucción microbiana..... | 21 |
| 1.8.1. | Cinética de esterilización por calor..... | 22 |
| 1.8.2. | Cinética de muerte microbiana..... | 22 |
| 1.8.3. | Tiempo térmico letal..... | 23 |
| 1.8.4. | Punto térmico letal..... | 23 |
| 1.8.5. | Tiempo de reducción decimal D..... | 23 |
| 1.8.6. | Valor-Z..... | 24 |
| 1.8.7. | Cinética de muerte..... | 25 |

| | | |
|-----------|--|----|
| 1.8.8. | Penetración de calor..... | 26 |
| 1.8.9. | Valor Fo | 28 |
| 1.9. | Lisado de amebocitos de limulus (Método LAL)..... | 28 |
| 1.9.1. | Prueba del Método LAL | 29 |
| 1.9.1.1. | Procedimiento para analizar las muestras..... | 30 |
| 1.10. | Prueba de esterilidad..... | 31 |
| 1.10.1. | Método de transferencia directa | 31 |
| 1.10.1.1. | Procedimiento para analizar las muestras..... | 32 |
| 2. | METODOLOGÍA..... | 33 |
| 2.1. | Variables..... | 33 |
| 2.1.1. | Variables de control | 33 |
| 2.1.2. | Definición de variables para esterilización..... | 33 |
| 2.1.3. | Definición de variables para la determinación del punto frío..... | 34 |
| 2.1.4. | Variables de control independientes..... | 35 |
| 2.1.5. | Variables de control dependientes..... | 36 |
| 2.1.6. | Variables de control biológico y microbiológico de soluciones parenterales esterilizadas de bajo volumen | 36 |
| 2.2. | Delimitación del campo de estudio | 38 |
| 2.3. | Recurso humano disponible | 38 |
| 2.4. | Recurso material disponible | 38 |
| 2.5. | Técnica de investigación descriptiva y correlacional | 39 |
| 2.6. | Recolección y ordenamiento de la información | 39 |
| 2.6.1. | Valores asignados a variables de temperatura de esterilización | 40 |

| | | |
|-----------|---|----|
| 2.6.2. | Número de muestras | 41 |
| 2.7. | Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información..... | 42 |
| 2.7.1. | Verificación de las cargas de soluciones parenterales con el <i>test</i> de esterilidad..... | 43 |
| 2.7.2. | Verificación de las cargas de soluciones parenterales con el análisis de endotoxinas bacterianas..... | 43 |
| 2.8. | Localización del punto más frío dentro de la cámara del autoclave..... | 44 |
| 2.9. | Prueba de exposición de vapor de la carga de soluciones parenterales | 44 |
| 2.10. | Análisis estadístico..... | 48 |
| 2.10.1. | Promedio estadístico | 48 |
| 2.10.2. | Desviación estándar..... | 48 |
| 2.10.3. | Análisis de varianza | 49 |
| 2.10.3.1. | Análisis de varianza de un solo factor | 49 |
| 2.10.3.2. | Métodos y modelos de los datos | 51 |
| 2.11. | Plan de análisis de resultados..... | 53 |
| 2.12. | Procedimiento para realizar el estudio económico y ambiental..... | 54 |
| 2.13. | Cronograma de actividades | 55 |
| 2.14. | Presupuesto | 55 |
| 3. | RESULTADOS..... | 57 |
| 3.1. | Determinación del punto frío de la cámara del autoclave..... | 57 |
| 3.2. | Distribución de la temperatura de la cámara del autoclave..... | 59 |
| 3.3. | Determinación de parámetros de control para sistema 1 | 60 |

| | | |
|-------|---|-----|
| 3.4. | Determinación de parámetros de control para sistema 2 | 61 |
| 3.5. | Determinación de parámetros de control para sistema 3 | 62 |
| 3.6. | Pruebas microbiológicas e indicadoras para sistema 1 | 63 |
| 3.7. | Pruebas bioindicadoras para sistema 2..... | 64 |
| 3.8. | Pruebas microbiológicas para sistema 2 | 65 |
| 3.9. | Pruebas microbiológicas e indicadoras para sistema 3..... | 66 |
| 3.10. | Ciclo de esterilización para sistema 2 | 67 |
| 4. | DISCUSIÓN DE RESULTADOS | 69 |
| | CONCLUSIONES | 75 |
| | RECOMENDACIONES | 77 |
| | BIBLIOGRAFÍA..... | 79 |
| | APÉNDICES | 83 |
| | ANEXOS..... | 131 |

ÍNDICE DE ILUSTRACIONES

FIGURAS

| | | |
|-----|--|----|
| 1. | Diagrama de autoclave | 5 |
| 2. | Parte frontal del autoclave..... | 6 |
| 3. | Parte trasera del autoclave | 6 |
| 4. | Ampollas de Frycialgina | 14 |
| 5. | Termopar tipo J | 15 |
| 6. | Ampolla química..... | 17 |
| 7. | Indicador biológico 3M Attest / steam..... | 19 |
| 8. | <i>Data Logger</i> conectado a computadora portátil | 21 |
| 9. | Cinética de termo-destrucción de microorganismos vs tiempo | 22 |
| 10. | Termo-destrucción de microorganismos vs tiempo | 24 |
| 11. | Valor D (tiempo de destrucción) vs Valor (cambio de temperatura)..... | 24 |
| 12. | Número de microorganismos sobrevivientes vs tiempo | 26 |
| 13. | Área bajo la curva en un gráfico de Temperatura vs. Tiempo..... | 27 |
| 14. | Ubicación de los termopares en una elevación lateral | 45 |
| 15. | Ubicación de los termopares en una elevación frontal..... | 46 |
| 16. | Colocación de lote de 1 500 ampollas en carretela para esterilización | 47 |
| 17. | Bandeja con ampollas de Frycialgina..... | 47 |
| 18. | Diagrama de proceso del plan de análisis..... | 53 |
| 19. | Ubicación del punto frío dentro de la cámara del autoclave..... | 58 |
| 20. | Ciclo de esterilización a 121 °C durante 20 minutos | 67 |

TABLAS

| | | |
|--------|---|----|
| I. | Clasificación etaria para dosificación de Frycialgina en niños | 13 |
| II. | Definición de variables para esterilización | 34 |
| III. | Definición de variables de punto frío | 35 |
| IV. | Definición operacional de variables independientes | 36 |
| V. | Definición de variables dependientes para el punto frío | 37 |
| VI. | Definición de variables para soluciones parenterales esterilizadas | 37 |
| VII. | Material y equipo..... | 39 |
| VIII. | Valores asignados a variables para determinar la temperatura de esterilización | 41 |
| IX. | Determinación de parámetros óptimos de control en la etapa de esterilización | 42 |
| X. | Verificación de las soluciones parenterales esterilizadas | 43 |
| XI. | Verificación de las soluciones parenterales esterilizadas de bajo volumen | 44 |
| XII. | Localización del punto más frío dentro de la cámara del autoclave..... | 45 |
| XIII. | Prueba dentro de la carga de soluciones parenterales de bajo volumen durante la esterilización..... | 46 |
| XIV. | Medidas de variabilidad | 50 |
| XV. | Análisis de varianza del ANOVA para un solo factor | 50 |
| XVI. | Distribución de temperatura trabajando a 121 °C durante 20 minutos con la cámara cargada (ANOVA)..... | 51 |
| XVII. | Prueba de Fisher con la cámara cargada | 52 |
| XVIII. | Distribución de temperatura trabajando a 121 °C durante 20 minutos con la cámara vacía (ANOVA) | 52 |
| XIX. | Prueba de Fisher con la cámara vacía | 52 |
| XX. | Cronograma de actividades | 55 |
| XXI. | Descripción de gastos de investigación | 56 |

| | | |
|---------|--|----|
| XXII. | Ubicación del punto frío con la cámara vacía..... | 57 |
| XXIII. | Ubicación del punto frío con la cámara cargada | 57 |
| XXIV. | Distribución de temperatura con la cámara vacía | 59 |
| XXV. | Distribución de la temperatura con la cámara cargada | 59 |
| XXVI. | Temperatura de esterilización de 115 °C | 60 |
| XXVII. | Temperatura de esterilización 121 °C | 61 |
| XXVIII. | Temperatura de esterilización a 125 °C | 62 |
| XXIX. | Temperatura de esterilización a 115 °C | 63 |
| XXX. | Pruebas indicadoras para sistema 2 | 64 |
| XXXI. | Temperatura de esterilización a 121° Celsius | 65 |
| XXXII. | Temperatura de esterilización a 125 °C | 66 |
| XXXIII. | Etapas del ciclo total de esterilización..... | 67 |

LISTA DE SÍMBOLOS

| Símbolo | Significado |
|--------------------------------|--|
| C | Concentración |
| ΔT_b | Diferencia de temperatura entre termopares |
| °C | Grados Celsius |
| °F | Grados Fahrenheit |
| g | Gramo |
| H₀ | Hipótesis nula |
| Kcal | Kilocaloría |
| Kg | Kilogramo |
| psi | Libras sobre pulgada cuadrada |
| mg | Miligramos |
| ml | Mililitro |
| min | Minutos |
| N | Número de corridas |
| bar | Presión en bares |
| “ | Pulgadas en sistema inglés |
| S/U | Sin unidades |
| T₁ | Temperatura del termopar 1 |
| mol | Unidad de cantidad de materia |
| UFE | Unidades formadoras de endotoxinas |
| BTU | Unidad de temperatura británica |
| V | Volumen |

GLOSARIO

| | |
|---------------------|--|
| Apirógeno | Es cualquier agente que no produce fiebre, puede ser microbial, como los productos de la pared celular de bacterias, o no microbial. |
| Autoclave | Aparato para esterilizar por vapor que consiste en un recipiente cilíndrico de paredes resistentes, metálicas y con cierre hermético, en cuyo interior contiene un líquido, generalmente agua, para someter objetos a presiones y temperaturas elevadas sin llegar a hervir. |
| Bioindicador | Organismo vivo que se utiliza para determinar y evaluar el índice de contaminación de un lugar, especialmente de la atmósfera o del agua. |
| EN | Son las siglas para el conjunto de normas que forman el estándar europeo para mercancías y servicios. |
| Endotoxina | Es un componente de la pared celular de las bacterias gramnegativas. Se libera de la bacteria estimulando varias respuestas de inmunidad innata. |

| | |
|-----------------------|---|
| Esterilización | La esterilización es un método de control del crecimiento microbiano que designa técnicas y procesos mediante los cuales diversos materiales y sustancias quedan exentos de todas las formas de vida microbianas, incluidos virus y esporas. |
| FDA | Es la agencia del gobierno de los Estados Unidos responsable de la regulación de alimento, medicamentos, cosméticos, aparatos médicos y productos biológicos y derivados sanguíneos. |
| Gramnegativa | Característica ligada a la estructura dada por la envoltura celular, ya que presenta doble membrana celular. Se denominan así porque no se tiñen de azul oscuro o de violeta por la tinción de Gram, lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. |
| Grampositiva | Son aquellas bacterias que se tiñen de azul oscuro o violeta por la tinción de Gram. Esta característica química está íntimamente ligada a la estructura de la envoltura celular, por lo que refleja un tipo natural de organización bacteriana. |
| ISO 17665 | Norma para la esterilización de productos sanitarios por medio de calor húmedo. Incluye los requisitos para el desarrollo, validación y control de rutina de un proceso de esterilización para productos sanitarios. |

| | |
|----------------------------|--|
| LAL | La prueba de lisado de amebocitos de Limulus (LAL). Es un método para la detección y cuantificación de endotoxina de bacterias gramnegativas (lipopolisacáridos). |
| Muerte térmica | Puede expresarse como el tiempo de muerte térmica (TMT), el cual es el tiempo mínimo para que toda bacteria en un cultivo líquido en particular sea exterminada a una temperatura determinada. |
| Pirógeno | Es cualquier agente que produce fiebre. Puede ser microbial, como los productos de la pared celular de bacterias, o no microbial. |
| Punto frío | Un punto frío es el punto en el espacio dentro de la cámara del autoclave que tarda más en alcanzar la temperatura de esterilización. |
| Solución parenteral | Es una preparación líquida, estéril, con electrolitos, nutrientes y/o fármacos, procedente de un laboratorio o farmacia, para ser administrada a un paciente con desviaciones de la salud, mediante inyecciones intramusculares. |
| Termopar | Es el sensor de temperatura más utilizado en la industria. Un termopar se hace con dos alambres de distinto material, unidos en un extremo soldado generalmente. |

Vapor saturado

Es vapor a la temperatura de ebullición del líquido. Es el vapor que se desprende cuando el líquido hierve. Se obtiene en calderas de vapor.

Vapor seco

Es cambiar el estado líquido del agua a su forma de gas. Esto se logra llevándola a 100° centígrados a la altura del nivel del mar. Entre más altura geográfica se tenga, el agua puede hacer ebullición (hervir) a temperaturas menores (92° Celsius).

RESUMEN

En el presente trabajo de investigación se determinaron los parámetros de control de un autoclave para la esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen. Para ello se determinó el punto más frío de la cámara del autoclave, simultáneamente se confirmó que no hay diferencia entre la distribución de temperaturas con la cámara vacía y cargada.

Para establecer el tiempo, temperatura y presión de esterilización para la etapa de esterilización, se trabajaron 3 sistemas: sistema 1 a 115 °C y 13 psi durante 10, 15, 20 y 25 minutos; sistema 2 a 121 °C y 19 psi durante 10, 15, 20 y 25 minutos, y sistema 3 a 125 °C, 21-22,5 psi durante 10, 15, 20 y 25 minutos. Se realizaron 12 combinaciones y 3 corridas por combinación para un total de 36 pruebas con la cámara cargada.

De las 36 pruebas con carga esterilizada se tomó una muestra representativa a la que se le realizaron dos pruebas microbiológicas, siendo estas el *test* de esterilidad y la prueba de endotoxinas bacterianas. Se obtuvieron resultados satisfactorios para 8 de las 12 combinaciones de los 3 sistemas, confirmando que no hay presencia de carga microbiana en las soluciones parenterales de bajo volumen, lo que indica la versatilidad de parámetros con los que se puede trabajar.

El sistema con el que se trabajará para esterilizar las soluciones parenterales de bajo volumen será a 121 °C y 18 psi durante 20 minutos. Este sistema es el más utilizado y recomendado por la norma EN ISO 17665 y la USP.

OBJETIVOS

General

Determinar los parámetros de control del autoclave, para la etapa de esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen, con el fin de demostrar que la penetración y distribución de calor es efectiva en cada carga, obteniendo un producto seguro y de calidad.

Específicos

1. Determinar el punto más frío de la cámara del autoclave, colocando termopares en diferentes puntos con la cámara vacía y cargada, registrando los parámetros de temperatura y tiempo.
2. Demostrar que la distribución de temperatura de esterilización se aplica de modo constante con y sin carga, colocando para ello termopares en diferentes puntos de la cámara y bioindicadores testigo en la carga.
3. Establecer los parámetros temperatura, presión y tiempo del autoclave, mediante el uso de termopares, manómetros y el dispositivo *Data Logger*, confirmando por medio del *test* de esterilidad y el análisis de endotoxinas bacterianas que la carga de producto es estéril.
4. Graficar el perfil de temperatura y tiempo, indicando la etapa de calentamiento, esterilización y enfriamiento del ciclo total de esterilización.

ANTECEDENTES

Estudios previos han llevado a cabo evaluaciones de las cuales se encontraron trabajos de graduación relacionados con el tema de investigación:

En el año 1999, en La Habana, Cuba, Elena Trifonova Arkadievna y Martha Zoe Lemus Rodríguez, del Laboratorio Farmacéutico "Oriente" José Castro Pú, realizaron la presentación de resultados de su investigación *Validación del proceso de esterilización para soluciones parenterales*. En esta investigación se establecieron los puntos fríos de la cámara del autoclave, realizando pruebas con frascos de vidrio situados en los puntos más fríos hallados dentro de la cámara.

Se realizó un tipo de biosondeo de la cámara en su totalidad, para confirmar la exposición de vapor utilizando bioindicadores y, con la ayuda de dispositivos de control, se establecieron los parámetros del proceso de esterilización usando controladores de temperatura y presión, como el tiempo de exposición, la presión de vapor saturado y el grado de evacuación de aire de la cámara.

En el año 2001, en la USAC, en Guatemala, Miguel Ángel Balcárcel Ruíz realizó la presentación de resultados de su investigación de trabajo de graduación: *Nuevo procedimiento de esterilización de soluciones parenterales masivas en envase PVC plastificado por medio de calor húmedo en autoclave*, estudio en el que se determinó el punto frío de la cámara del autoclave, se establecieron los parámetros de esterilización, así como el tiempo, la temperatura y la presión para soluciones parenterales de gran volumen, se

graficó el perfil de temperatura del ciclo total de esterilización y, además de ello, se realizó el diseño de un tipo de carretela para evitar el desmanchado del envase en el tiempo de enfriamiento.

Por último, en el año 2003, en La Habana, Cuba, J. A. Padrón, M. E. Reyes y C. E. Gandolff, realizaron la presentación de resultados de su investigación: *Validación de ciclos de esterilización en autoclaves*.

En esta investigación se establecieron los puntos fríos de la cámara del autoclave, se realizó un desafío microbiológico en la carga a esterilizar para confirmar la exposición de vapor utilizando bioindicadores, y se determinó el tiempo de muerte térmica para la esterilización de soluciones parenterales de gran volumen.

HIPÓTESIS

No existe diferencia significativa entre la distribución de temperatura de esterilización con la cámara del autoclave vacía y cargada, lo que demuestra que la distribución de temperatura de esterilización se aplica de modo constante a todas y cada una de las cargas a esterilizar.

Hipótesis nula:

No existe diferencia significativa entre la distribución de temperatura de esterilización con la cámara del autoclave vacía y cargada, lo que demuestra que la distribución de temperatura de esterilización se aplica de modo constante a todas y cada una de las cargas a esterilizar.

Hipótesis alternativa:

Sí existe diferencia significativa entre la distribución de temperatura de esterilización con la cámara del autoclave vacía y cargada, lo que demuestra que la distribución de temperatura no se aplica de modo constante y se ve afectada por la presencia de las cargas a esterilizar.

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

Definición del problema

En la etapa de esterilización, establecer y mantener los parámetros de operación de un autoclave es importante, ya que esto permite que la distribución de temperatura se mantenga constante dentro de la cámara de esterilización, y la aplicación de la penetración de calor sea eficiente a todas y cada una de las cargas de soluciones parenterales de bajo volumen, con el fin de optimizar el proceso y de esta manera fabricar un producto seguro y de calidad para el consumidor

Delimitación del problema

Para determinar los parámetros de operación de un autoclave, el estudio se enfoca en un autoclave propiedad de un laboratorio farmacéutico. Se utilizaron como elementos de medición termopares, manómetros, bioindicadores de incubación, el dispositivo electrónico de almacenamiento de datos *Data Logger* y el software *Hoboware*. Como pruebas microbiológicas, el *test* de esterilidad y el análisis de endotoxinas bacterianas. Para establecer el tiempo, temperatura y presión de esterilización para la etapa de esterilización, se trabajaron 3 sistemas siendo estos de 115 °C, 121 °C y 125 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos; se realizaron 12 combinaciones y 3 corridas por combinación para un total de 36 pruebas con la cámara cargada.

JUSTIFICACIÓN

Los productos farmacéuticos, para llegar al paciente o consumidor, deben pasar por una serie de inspecciones como las buenas prácticas de manufactura y buenas prácticas de laboratorio, además de cumplir con ciertas normativas tanto para el proceso de fabricación como para la etapa de esterilización, como la norma ISO 17665, la Farmacopea USP y otras como la FDA.

Debido a la importancia que tiene la esterilización de soluciones parenterales para la salud del consumidor, se hizo necesaria la determinación de los parámetros que permiten mantener controlada la esterilización por autoclave de soluciones parenterales de bajo volumen, con el objetivo de que la penetración de calor sea eficiente para cada una de las cargas a esterilizar, y de esta manera ofrecer un producto seguro y confiable.

Para la etapa de esterilización es necesario establecer la temperatura, presión y tiempo, así como determinar el punto frío de la cámara del autoclave. Se trabajaron 3 diferentes sistemas de esterilización, siendo estos de 115 °C, 121 °C y 125 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos, con un total de 36 pruebas con la cámara cargada. En cada lote a esterilizar se realizó el análisis de endotoxinas bacterianas y, como prueba determinante, el *test* de esterilidad.

INTRODUCCIÓN

En la fabricación de soluciones parenterales de bajo volumen, la etapa más importante es la esterilización. Es por ello que se hace necesario establecer parámetros de un autoclave, con el objetivo de que la penetración de calor en la carga sea distribuida de manera uniforme. Los parámetros que componen la etapa de esterilización son temperatura, presión, determinación de punto frío y tiempo de esterilización, los cuales afectan el ciclo total de esterilización, conformado por calentamiento, tiempo de esterilización y tiempo de enfriamiento.

Después de la esterilización se realizan pruebas microbiológicas para confirmar la ausencia de microorganismos. Para este caso las soluciones esterilizadas se analizaron por medio de endotoxinas bacterianas y, como prueba determinante, se realizó el *test* de esterilidad. Algunas normas, como la EN ISO 17665 y la USP, recomiendan trabajar con determinados parámetros de temperatura y tiempo, pero cabe señalar que no todos los productos se pueden esterilizar con las mismas condiciones debido a su composición y envase.

1. MARCO TEÓRICO

1.1. Proceso de fabricación de soluciones parenterales de bajo volumen

El proceso de fabricación de soluciones parenterales de bajo volumen se lleva a cabo en varias etapas. Inicia con la aprobación de la materia prima y las ampollas de vidrio, se procede a realizar las mediciones de las cantidad a utilizar en el área de metrología, se traslada al área de mezclado donde se mezclarán los ingredientes, posteriormente la solución es filtrada, con la solución filtrada se llenan las ampollas de vidrio y se sella el envase para luego ser esterilizada. De todo este proceso el objeto de estudio es la etapa de la esterilización y de la liberación del producto terminado.

1.2. Esterilización

La esterilización es un método de control del crecimiento microbiano que designa técnicas y procesos mediante los cuales diversos materiales y sustancias quedan exentos de todas las formas de vida microbianas, incluidos virus y esporas.

Es un término absoluto que implica que todos los microorganismos patógenos y generadores de toxinas han sido destruidos, al igual que todos los demás tipos de organismos que, de estar presentes, podrían crecer dentro del producto y provocar su descomposición bajo condiciones normales de manejo y almacenamiento.¹

¹ MURRAY, Patrick., et. al. *Microbiología médica*. España: Editorial Elsevier, 2009. P 144.

1.2.1. Altas temperaturas para destrucción de microorganismos

Se trata de la acción letal del calor. Es una relación de temperatura y tiempo afectada por muchas condiciones. Se debe seleccionar el tiempo y la temperatura requerida para reducir la población microbiana al nivel deseado. Los procedimientos prácticos en los que se emplea el calor se dividen convenientemente en dos categorías: calor húmedo y calor seco.

1.2.1.1. Calor húmedo

Es un método térmico de esterilización que mata microorganismos por la coagulación de proteínas (desnaturalización). Este proceso de coagulación es familiar para cualquiera que haya observado cómo se cocina la clara de huevo. La esterilización confiable con calor húmedo requiere temperaturas superiores a la ebullición del agua. "Estas temperaturas se alcanzan con más frecuencia mediante vapor bajo presión en un autoclave, tiene las ventajas de proporcionar calentamiento rápido, efectivo, penetración y humedad en abundancia que facilitan la coagulación de las proteínas celulares."²

Algunos métodos de esterilización no llegan a cumplir con la destrucción total de los microorganismos, solamente reducen la carga microbiana del producto. Es por eso que, dependiendo del producto, cambian el método y las condiciones de esterilización.

² PELCZAR, Michael., et. al. *Microbiología*. USA: McGraw-Hill, 1977. P 373.

1.2.1.2. Calor seco

Método térmico de esterilización que destruye microorganismos al oxidar sus constituyentes químicos, la esterilización con calor seco o aire caliente se recomienda cuando no se requiere que el vapor a presión tenga contacto completo y directo con el material a esterilizar, como artículos de vidrio de laboratorio. El aparato que se emplea es un horno especial de gas, eléctrico o doméstico de cocina.³

1.3. Autoclave

La esterilización mediante autoclaves con vapor saturado es el método universal más utilizado, aplicable a soluciones parenterales de bajo volumen que puedan soportar el calor y la humedad. Los autoclaves “son excelentes herramientas de esterilización que alcanzan en poco tiempo temperaturas más altas que la ebullición del agua, apoyadas en un hermético sistema de presión.”⁴

La esterilización se lleva a cabo en un autoclave industrial construido en acero inoxidable marca *Wilmot Castle Company Rochester N. Y., USA*, Serie No. 371246, de forma rectangular con dimensiones de ancho 0,61 m, alto 0,91 m y de fondo 1,70 m. El aparato es una cámara de vapor de doble pared de ancho, de 0,05 m y capacidad de 0,95 m³ o 3 000 ampollas, equipada con dispositivos que permiten que la cámara se llene a saturación de vapor y se mantenga a la temperatura y presión deseada durante cualquier período.

Al manejar el autoclave es esencial que el aire de la cámara sea reemplazado completamente por vapor. Si queda aire dentro, la temperatura en la cámara se reducirá mucho más que si solo hubiese vapor a la misma presión.

³ PELCZAR, op. cit., pág. 373

⁴ Ibídem, pág. 373

No es la presión lo que mata a los microorganismos sino la temperatura elevada del vapor.⁵

Este equipo emplea saturación de vapor de agua. Un autoclave puede trabajar temperaturas de 100 °C a 145 °C y presiones de 1 bar a 2,5 bar; la escala de temperatura es muy precisa, sin embargo, puede presentar pequeñas diferencias. Su correcto funcionamiento es de 1 a 1,2 bar para 121 °C, y el tiempo de esterilización es de 15 a 25 minutos. La etapa de esterilización depende de la eficacia del equipo y de las limitaciones que son propias de cada producto.

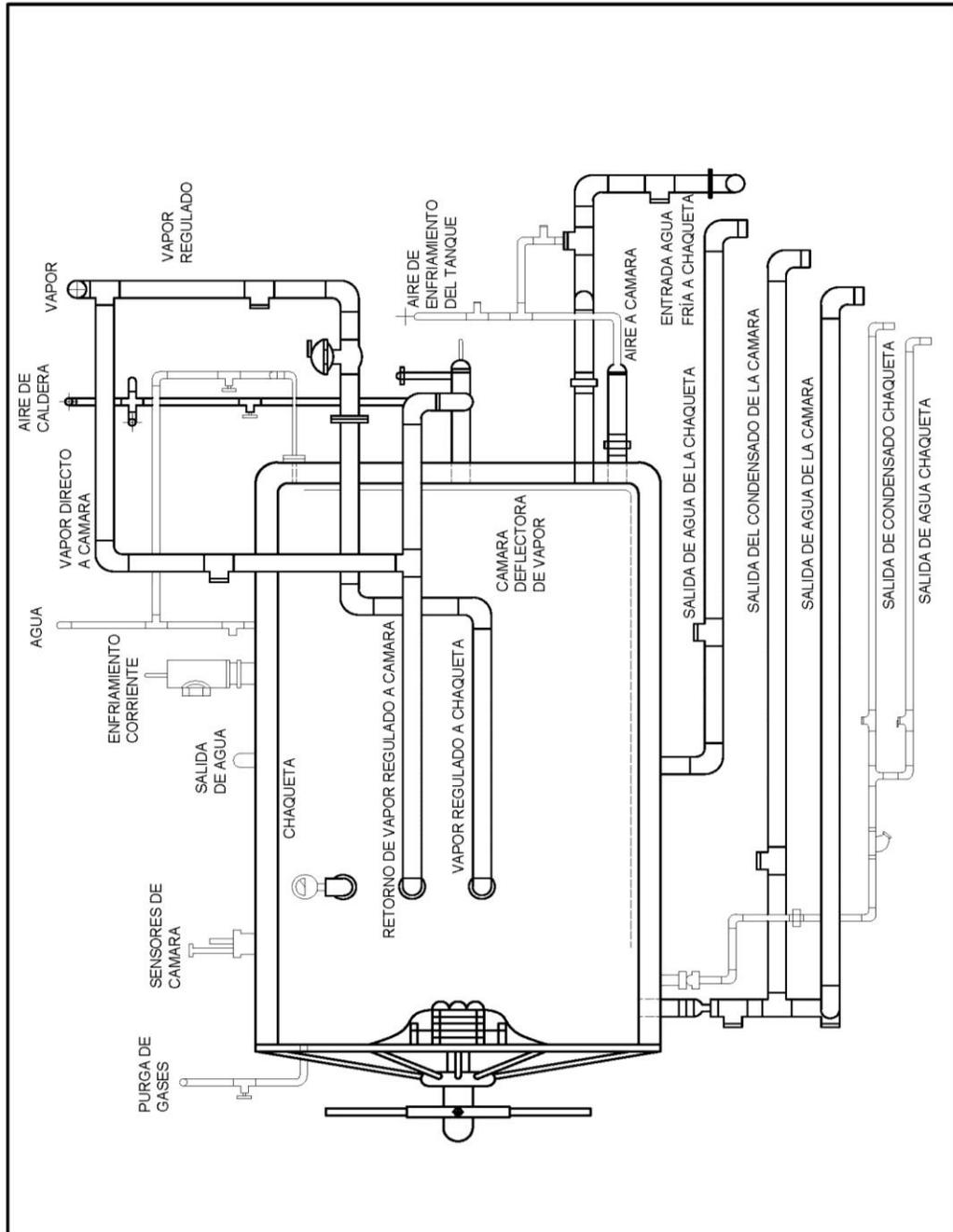
La esterilización es característica de cada autoclave, envase y producto. Es por ello que se hace necesario determinar los parámetros óptimos para mantener controladas las variables de operación en la etapa de esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen, con el fin de obtener un producto de calidad que sea confiable y seguro para el ser humano.

1.3.1. Componentes frontales que conforman un autoclave

En la siguiente página, en la figura 1, se presenta el diagrama del autoclave utilizado para la esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen, denotando cada uno de sus componentes. De la misma manera, en la figura 2, se muestra una fotografía de la parte frontal, y en la figura 3, la parte trasera del mismo.

⁵ PADRÓN, José Alberto., et. al. *Validación del ciclo de esterilización*. Cuba: Sociedad Cubana de Bioingeniería, 2003. P. 247.

Figura 1. Diagrama de autoclave



Fuente: BALCÁRCEL RUIZ, Miguel. *Nuevos procedimientos de esterilización de soluciones parenterales masivas en envase PVC plastificado por medio de calor húmedo en autoclave.*

Figura 2. **Parte frontal del autoclave**



Fuente: Laboratorios Alfa Farmacéutica, S.A. *Autoclave*. Consulta: 9 de octubre del 2012.

Figura 3. **Parte trasera del autoclave**



Fuente: Laboratorios Alfa Farmacéutica, S.A. *Autoclave*. Consulta: 9 de octubre del 2012.

1.3.2. Ventajas de un autoclave

El vapor saturado tiene algunas características, las cuales se convierten en ventajas, siendo estas:

- Calentamiento y penetración rápida.
- Destrucción de las esporas bacterianas más resistentes en un breve intervalo de exposición.
- Fácil control de la calidad y letalidad para las soluciones parenterales a esterilizar.
- No deja residuo tóxico en el material después de la esterilización.
- Es el agente esterilizador más económico y rápido.
- Es seguro, ya que cuenta con medidores de presión, temperatura y nivelado de agua.

1.3.3. Funcionamiento de un autoclave

El proceso completo de esterilización del autoclave se compone de diferentes fases:

- Fase de purgado: se abre la llave de vapor, el vapor es generado por una caldera, el vapor producido desplaza el aire, haciéndolo salir por la válvula de purgado que está abierta. Esta fase termina cuando se alcanza la temperatura de esterilización.
- Fase de esterilización: una vez cerrada la válvula de purgado y alcanzada la temperatura de esterilización previamente seleccionada, se inicia el proceso de esterilización.

- Fase de descarga: terminado el proceso de esterilización, se cierra la llave de vapor y se abre la llave del drenaje, se espera a que salga todo el vapor y se abre la compuerta.

1.3.4. Autoclave en la industria farmacéutica

Dentro de los procesos de esterilización en autoclaves, el vapor es el agente utilizado comúnmente, aunque existen otros métodos tales como cascada de agua, *spray* de agua y mezcla de vapor-aire, que también son populares. El calor latente que se libera al condensar el vapor en los elementos que han de ser esterilizados, hace que este proceso sea muy eficiente. Los rangos de temperaturas que se alcanzan durante los procesos de esterilización varían entre 115 °C y 134 °C. La variedad de productos que son sometidos a procesos de esterilización es muy amplia, destacándose: bolsas, botellas, viales, jeringas y ampollas de vidrio, así como líquidos y equipamiento médico en diversos contenedores.

1.4. Parámetros de control del autoclave

A continuación se describen los parámetros de control utilizados para la esterilización en autoclave, basados en distintas normas.

1.4.1. Temperatura de esterilización o de consigna

La temperatura oscila entre 121 °C y 134 °C, según norma UPS.

1.4.2. Presión de operación

Presiones de 1,3 bar posibilitan temperaturas de 121 °C, y de 2,2 bar temperaturas de 134 °C.

1.4.3. Tiempo de esterilización

El tiempo de esterilización es un parámetro determinante en la etapa de esterilización, ya que es el tiempo necesario que garantiza la destrucción total de los microorganismos presentes en el producto o material esterilizado.

1.4.4. Perfil de temperatura

Representa el monitoreo típico de temperatura de la cámara del autoclave con respecto al tiempo. Inicia cuando se carga y se halla a temperatura ambiente. Al introducir vapor la temperatura aumenta rápidamente para alcanzar el valor fijado, a este se le llama tiempo de calentamiento. La cámara se mantiene a esta temperatura durante un período conocido como tiempo de esterilización, cuando decrece la temperatura de esterilización la temperatura disminuye y la cámara se enfría y se conoce como tiempo de enfriamiento.

1.4.5. Ciclo de esterilización

Es un conjunto de etapas ordenadas que tienen por finalidad asegurar la eficiencia y eficacia de la esterilización en un período de tiempo establecido. Consta de las siguientes etapas:

1.4.5.1. Tiempo de calentamiento

Es el período que transcurre desde que se enciende el aparato hasta que alcanza la temperatura de esterilización. Debe diferenciarse dentro de este un tiempo inicial denominado de purgado, durante el cual el aire es expulsado de la cámara de esterilización. Una vez que el purgado finaliza (verificado por observación de salida de vapor continua por la válvula) y una vez que se cierra esta, comienza el tiempo de calentamiento, que debe durar no menos de 15 a 30 minutos, hasta que se alcance la temperatura de esterilización. El tiempo depende de la carga y del tamaño del autoclave, debiéndose establecer el tiempo ideal en cada caso.

1.4.5.2. Tiempo letal de esterilización

Es el período en que la temperatura destruye los microorganismos. El tiempo recomendado según la norma EN ISO 17775 y USP es de 20 minutos a 121 °C, dependiendo el material y producto a esterilizar. Sin embargo, existen productos que necesitan de una temperatura más elevada o un tiempo de exposición más amplio, o una combinación de ambos, es por eso que se necesita calibrar los autoclaves para la esterilización de cada objeto.

1.4.5.3. Tiempo de enfriamiento

Es el período en el cual la presión del vapor dentro de la cámara desciende a la presión atmosférica y logra el secado y enfriamiento del material esterilizado.

1.4.5.4. Tiempo total de esterilización

Es la suma total de todos los tiempos en que se garantiza la destrucción total de los microorganismos.

1.4.6. Punto frío

Un punto frío es el punto en el espacio dentro de la cámara que tarda más en alcanzar la temperatura de esterilización. Si se quiere asegurar que se logre la esterilización, se debe dejar que el punto frío alcance la temperatura de esterilización y que la conserve el tiempo necesario a fin de destruir las esporas bacterianas más resistentes.

Cabe mencionar que para los objetivos del estudio se localizará el punto más frío para determinar si la distribución de temperatura es homogénea dentro de la cámara y así demostrar que la penetración de calor es efectiva, para ello se colocarán medidores de temperatura en diferentes puntos. Si se requiere, por ejemplo, elevar la temperatura a 120 °C durante 5 minutos en el sistema que se está empleando, entonces al asegurarse de que el punto frío esté a 120 °C durante 5 minutos, se podrá estar seguro de que todas las demás áreas dentro de la cámara han sido suficientemente calentadas.

El tiempo para lograr el calentamiento del punto frío varía de acuerdo con el autoclave empleado, el tamaño y forma del material a esterilizar y la composición del material; es evidente que el tratamiento térmico requerido tiene que ser determinado para cada caso individual.⁶

⁶ MURRAY, op. cit., pág. 144

1.5. Soluciones parenterales de bajo volumen

Son preparaciones líquidas, estériles, con electrolitos, nutrientes y/o fármacos, procedentes de un laboratorio o farmacia, para ser administradas a un paciente en múltiples situaciones de desviación de la salud, mediante inyecciones administradas debajo o a través de una o más capas de la piel o de las membranas mucosas. El procedimiento se hace de forma continua a través del torrente sanguíneo, utilizando la fuerza de gravedad. En la industria se producen soluciones inyectables en ampollas de vidrio de 1 a 10 ml y frascos viales de 10 a 100 ml.

La etapa de esterilización es determinante para las soluciones parenterales, ya que, realizada incorrectamente, no sólo se perdería el esfuerzo de todas las etapas anteriores del proceso, sino que también ocasionaría graves perjuicios a la salud de los consumidores. Con fines de prevenir estos daños, el fabricante farmacéutico de productos sujetos a esterilización final debe prestar atención especial a esta etapa del proceso productivo.

1.5.1. Frycialgina

Solución parenteral de bajo volumen. La ampolla Frycialgina es esterilizada en autoclave en los laboratorios Alfa Farmacéutica. Se compone de las siguientes características: ampolla de vidrio de 2 ml, color ámbar, contiene Dipirona Sódica o metamizol en cantidad de 1 gramo y agua para inyección c.s.p 2 ml. La presentación del producto es en caja de 5 y 100 ampolletas, pertenece a la familia de las pirazonas, el principio activo metamizol se presenta en forma de metamizol sódico.

La solución de Frycialgina inyectable posee efecto analgésico, antipirético, antiinflamatorio y antiespasmódico. Es indicada para cefaleas y odontalgias, dolores consecutivos a traumatismo y operaciones, en las enfermedades reumáticas, espasmódicas como cólicos y contracciones del tracto gastrointestinal, vías biliares, riñones y del tracto urinario. No presenta efectos secundarios, no debe utilizarse en pacientes que presenten alergia a la Dipirona o enfermedad hepática. La vía de administración es intramuscular e intravenosa, en caso de emplear la vía intravenosa debe inyectarse lentamente (no más de 1 ml/min).

La dosificación para adultos es de 1 ampolla 3 veces al día, y la dosificación para niños se encuentra en la tabla I, separada según un rango de edades establecido para dicho medicamento.

Tabla I. **Clasificación etaria para dosificación de Frycialgina en niños**

| | | |
|---------------------------------|---|--------------|
| 3 a 12 meses (aprox. 6 a 10 Kg) | - | 0,1 – 0,3 ml |
| 1 a 2 años (aprox. 12 a 14 Kg) | - | 0,2 – 0,4 ml |
| 3 a 4 años (aprox. 16 Kg) | - | 0,3 – 0,6 ml |
| 5 a 7 años (aprox. 22 Kg) | - | 0,5 – 0,8 ml |
| 8 a 12 años | - | 0,8 - 1 ml |

Fuente: Alfa Farmacéutico. *Dosificación de Frycialgina*. Consulta: 13 de noviembre de 2014.

Se determinarán los parámetros de control de un autoclave para esterilización, utilizando como objeto de estudio ampollas contenedoras de Frycialgina de uso analgésico y antiinflamatorio. En la siguiente página se ilustran dichas ampollas, en la figura 4.

Figura 4. **Ampollas de Frycialgina**



Fuente: Laboratorios Alfa Farmacéutica S.A. www.alfafarmaceutica.com. Consulta: 13 de marzo de 2012.

1.6. Control de esterilización

Es el indicador que se utiliza para asegurar que la esterilización fue exitosa. Existen diversos métodos que permiten comprobar, de forma eficiente y eficaz, que no se han producido fallos durante el proceso de esterilización, como lo son: controles físicos, químicos y biológicos; estos a su vez se subdividen en categorías según su forma de operación, en general dan una muestra visual de que el proceso de esterilización obtuvo el resultado deseado.

1.6.1. Controles físicos

Son registros gráficos que indican los parámetros físicos, tales como temperatura y presión. Para medir estos parámetros se utilizaron termopares y manómetros.

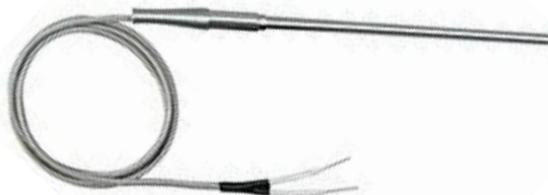
1.6.1.1. Termopar o termocupla

El termopar o termocupla es el sensor de temperatura más utilizado en la industria. Un termopar se hace con dos alambres de distinto material unidos en un extremo, generalmente soldado. Al aplicar temperatura en la unión de los metales se genera un voltaje muy pequeño que se conoce como efecto *Seebeck* del orden de los milivoltios que aumenta con la temperatura.

Si se tiene un termopar "tipo J" que está hecho con un alambre de hierro y otro de constantán (aleación de cobre y níquel), al colocar la unión de estos metales a 750 °C debe aparecer en los extremos 42,2 milivoltios. Normalmente los termopares industriales se consiguen encapsulados dentro de un tubo de acero inoxidable u otro material (vainas); en un extremo está la unión y en el otro el terminal eléctrico de los cables, protegido adentro de una caja redonda de aluminio (cabezal).

En la figura 5 se ilustra la forma de un termopar de "tipo j", como los utilizados dentro de la etapa de experimentación, los cuales se encontraban dentro de los autoclaves para las mediciones correspondientes, por lo que no pueden ser observados a simple vista.

Figura 5. **Termopar tipo J**



Fuente: Arian Control & Instrumentation. www.arian.cl. Consulta: 13 de marzo del 2012.

1.6.1.2. Manómetros

Es un instrumento utilizado para la medición de la presión en los fluidos, generalmente determinando la diferencia de la presión entre el fluido y la diferencia de la presión local. La unidad de medición a utilizar será psi y bar.

1.6.2. Controles químicos

Son sustancias tales como tintas, ceras y soluciones químicas que mediante una reacción química cambian su aspecto cuando se exponen al proceso de esterilización.

Los indicadores químicos son específicos para cada proceso de esterilización, esto quiere decir que algunos están diseñados solo para el control de la esterilización por vapor, como por ejemplo la cinta indicadora que cambia de color a uno más oscuro cuando está expuesta al vapor, el cual fue utilizado para este proceso de esterilización de soluciones parenterales.

La ventaja fundamental de usar un indicador químico es que dan una lectura inmediata y, junto con los parámetros físicos (presión, humedad, temperatura, tiempo, entre otros), proporcionan la primera indicación de si se han alcanzado las condiciones del proceso de esterilización predefinidas durante el ciclo.

1.6.2.1. Ampolla química

En la mayoría de los casos es un cambio de color de la tinta química. El indicador químico más popular en los últimos 30 años ha sido la cinta

indicadora, impresa con una tinta química que cambia de color cuando es expuesta al ciclo de esterilización.

Para el control de la esterilización por vapor es posible encontrar una gran variedad de indicadores químicos, desde una ampolla de cristal que contiene una solución que cambia de color hasta materiales sólidos que se convierten en líquidos después de la exposición a una temperatura determinada durante un cierto tiempo, como la ampolla química de ácido benzoico, que es la que se utilizará en el proceso de esterilización.

El problema de este tipo de indicadores es que la interpretación de los resultados está basada en un cambio de color o cambio de estado, y a veces es difícil distinguir fallos marginales, debido a la percepción que es diferente de una persona a otra, por lo tanto no es eficiente. En la figura 6 se muestran ampollas químicas utilizadas en procesos con vapor.

Figura 6. **Ampolla química**



Fuente: *Instrumentación científica técnica*. www.ictsl.net. Consulta: 23 de marzo de 2012.

1.6.3. Controles biológicos

Los indicadores biológicos se utilizarán como controles del proceso de esterilización. Existen indicadores biológicos o bioindicadores para exposición de vapor a 121 °C y 135 °C.

1.6.3.1. Indicadores biológicos

Un indicador biológico es una preparación que contiene las esporas más resistentes frente a un agente esterilizante. Se utilizan ya que las buenas prácticas de fabricación y las Farmacopeas Internacionales mencionan claramente la necesidad de utilizar indicadores biológicos en la validación y control de ciclos de esterilización, cualquiera sea el agente esterilizante.

Es importante saber que durante la validación de un ciclo de esterilización los indicadores biológicos permiten medir la letalidad producida por dicho ciclo. Una vez establecidas las condiciones de esterilización, es tan importante el monitoreo con indicadores biológicos como el control de los parámetros físicos de cada proceso.

El indicador biológico a implementar será 3M Attest 1262, para exposición de vapor a 121 °C, y consiste en una tira de esporas de *Bacillus stearothermophilus*, una ampolla de vidrio sellado con un medio de cultivo y un indicador químico de pH púrpura de bromocrisol, contenidos en un vial plástico. Tiene una etiqueta que cambia de color rosa a café, que se activa cuando se pone en contacto con el medio de cultivo.

Después de la esterilización el vial se activa para poner en contacto el medio de cultivo con la tira de esporas procesada. El indicador se coloca en una

incubadora de vapor Attest, durante 48 horas a 56 °C +/- 2 °C. Un cambio de color de púrpura a amarillo indica un resultado positivo debido al crecimiento de las esporas. En la figura 7 se ilustra la presentación del indicador biológico descrito con anterioridad.

Figura 7. **Indicador biológico 3M Attest / steam**



Fuente: TropakPackmittel. www.tropak.com. Consulta: 25 de noviembre de 2014.

1.7. Data Logger

Es un dispositivo electrónico que registra mediciones ordenadas en el tiempo, provenientes de diferentes sensores (termopar); luego cada medición es almacenada en una memoria, junto con su respectiva fecha y hora.

En general, los *Data Loggers* son pequeños y están conformados por un microprocesador, una memoria para el almacenamiento de los datos y diferentes sensores. La mayoría utiliza a la PC como interface para programar al dispositivo y leer la información recolectada. El programa que será utilizado en este caso es el *Data Logging Software - HOBOWare Pro*.

Uno de los beneficios de utilizar esta herramienta es la capacidad de recopilar grandes cantidades de información durante períodos largos de tiempo,

lo cual es de suma importancia para monitorear que las condiciones del autoclave se mantengan estables.

1.7.1. Características principales

Las características que tiene el software utilizado se describen a continuación:

- Tiene una buena capacidad de almacenamiento de datos, por lo tanto hay que determinar una cierta cantidad de memoria y el tiempo de trabajo dependerá del intervalo entre muestras y la capacidad de memoria.
- Bajo costo de los componentes y disponibilidad. Es muy importante, ya que para ciertas aplicaciones se podrían necesitar varios equipos, o bien, puedan ser utilizados en lugares donde corran el riesgo de ser destruidos.
- Una interfase con el usuario a través de una computadora, donde el usuario pueda programar o leer el dispositivo de una manera sencilla y rápida, utilizando aplicaciones que le sean familiares para analizar la información.

1.7.2. Aplicaciones

Los *Data Logger* pueden ser construidos para controlar todo tipo de datos ambientales; la temperatura y la humedad son las más comunes. Según se requiera pueden servir para otras aplicaciones, por ejemplo, han sido utilizados por muchos años en los servicios meteorológicos para medir la humedad,

presión atmosférica, los niveles de precipitación, entre otros. También un *Data Logger* puede ser transportado, por ejemplo, para registrar la cadena de frío de una carga desde una planta hasta el centro de distribución. En la figura 8, se muestra como luce un *Data Logger* conectado a una computadora portátil.

Figura 8. ***Data Logger* conectado a computadora portátil**



Fuente: KKInstruments. www.meter.com.my. Consulta: 30 de noviembre de 2014.

1.8. Cinética de destrucción microbiana

La esterilización es una reacción química unimolecular o bimolecular de primer orden, que termina cuando la cantidad de microorganismos es cero. Sigue la ecuación de Arrhenius descrita a continuación.

$$k = \alpha' e^{-E/RT}$$

Donde:

k = constante de velocidad de reacción

E = energía de activación (68,7 kcal/g mol)

T = temperatura absoluta

α' = constante empírica

R = constante del gas ideal

1.8.1. Cinética de esterilización por calor

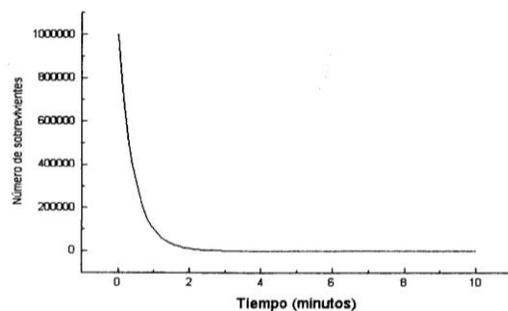
Se fundamenta en que todos los microorganismos tienen una temperatura máxima de crecimiento y, cuando se sobrepasa esta temperatura, se produce la desnaturalización (proceso irreversible) de las proteínas, haciendo que estas se deformen y pierdan su estructura, entonces los microorganismos mueren.

La desnaturalización es una función exponencial (primer orden), es decir que mientras más aumenta la temperatura, hay un descenso exponencial del número de microorganismos.

1.8.2. Cinética de muerte microbiana

La figura 9 muestra una gráfica que ilustra la destrucción por medios térmicos de microorganismos en un lapso de tiempo determinado.

Figura 9. **Cinética de termo-destrucción de microorganismos vs tiempo**



Fuente: VIGNOLI, Rafael. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. P. 610.

La población bacteriana no se destruye instantáneamente cuando se la ha expuesto a un agente letal (esterilización), su muerte al igual que su crecimiento es exponencial, queriendo decir que a medida que la población se reduce lo

hace en niveles iguales e intervalos constantes. Se considera que una bacteria está muerta cuando no crece, ni se multiplica en medio de cultivo adecuado, y un virus se considera inactivado cuando no es capaz de multiplicarse en un huésped apropiado.

1.8.3. Tiempo térmico letal

El tiempo térmico letal es el tiempo más corto que lleva destruir los microorganismos a una temperatura determinada.

1.8.4. Punto térmico letal

El punto térmico letal es la temperatura más baja que se necesita para matar a los organismos en 10 minutos.

1.8.5. Tiempo de reducción decimal D

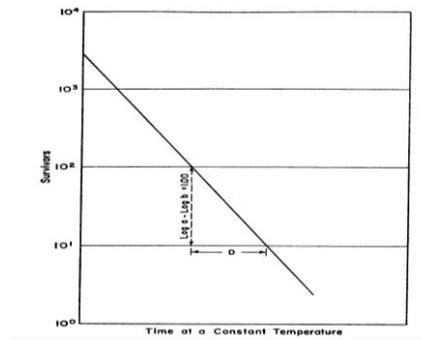
Es un parámetro utilizado para la caracterización de la esterilización por calor y se define como el tiempo necesario, a una temperatura dada, para disminuir en un 90 % la densidad de una población de microorganismos.

Es necesario saber que cuando el logaritmo de D se representa gráficamente frente a la temperatura, se obtendrá una línea recta, cuya pendiente de la recta será un indicativo de la sensibilidad que presenta el microorganismo a diferentes temperaturas.

1.8.6. Valor-Z

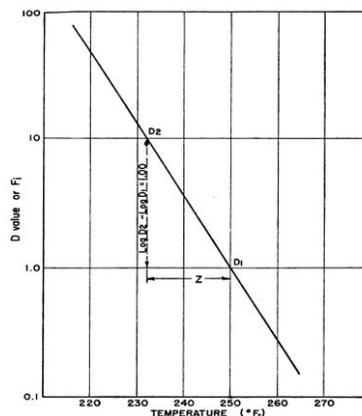
El Valor-Z es el cambio de temperatura que se requiere para modificar el valor D (tiempo) por un factor de 10. La figura 10 ilustra el tiempo de reducción decimal D para un microorganismo en un intervalo de tiempo específico. Y la figura 11 ilustra el valor-Z frente al valor D y muestra el cambio de temperatura necesaria para que el valor D se reduzca.

Figura 10. **Termo-destrucción de microorganismos vs tiempo**



Fuente: VIGNOLI, Rafael. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. P. 621.

Figura 11. **Valor D (tiempo de destrucción) vs Valor (cambio de temperatura)**



Fuente: VIGNOLI, Rafael. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. P. 625.

1.8.7. Cinética de muerte

Bajo condiciones letales, los organismos de una población no mueren simultáneamente. Estadísticamente se puede decir que a medida que la dosis letal aumenta, la población de microorganismos muere exponencialmente, por tanto, una gráfica del logaritmo del número de supervivientes en cualquier momento contra el tiempo transcurrido de tratamiento (dosis), producirá una línea recta.

Cuando el descenso logarítmico es constante desde el tiempo cero, la curva es una forma de cinética de choque único, es decir, una lesión irreversible es suficiente para matar a una célula y se describe mediante la ecuación siguiente:

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

Donde:

N_0 = población microbiana inicial

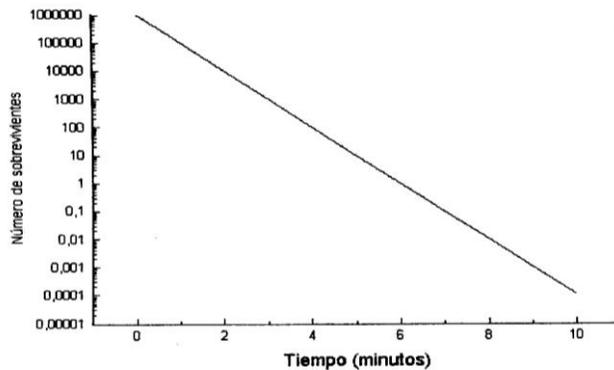
N = población microbiana en cualquier instante

t = tiempo de tratamiento

k = velocidad constante de muerte específica

La figura 12, en la siguiente página, ilustra el descenso en el número de sobrevivientes de microorganismos durante un proceso de esterilización, en un lapso de tiempo.

Figura 12. **Número de microorganismos sobrevivientes vs tiempo**



Fuente: VIGNOLI, Rafael. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. P. 616.

1.8.8. Penetración de calor

Para determinar si la penetración de calor es efectiva en cada carga a esterilizar, y demostrar que se destruyen las esporas bacterianas más resistentes, se utiliza un bioindicador. El más empleado como desafío es el microorganismo *Bacillus stearothermophilus*, ampliamente conocido por su resistencia al calor.

Los valores más comunes de D varían entre 1,0 y 3,0 minutos a 121 °C, mientras que el valor Z oscila entre 8 °C y 13 °C, aunque recientemente se han empleado en estudios de validación con indicadores biológicos con un valor Z = 30 °C.

Una vez conocidos estos parámetros es posible desarrollar un modelo matemático que permita calcular la capacidad de un proceso de esterilización para eliminar los microorganismos, en términos de letalidad, según la expresión siguiente:

$$L = 10^{\frac{(T-T_b)}{z}}$$

Donde:

L = letalidad

T = temperatura instantánea

T_b = temperatura base

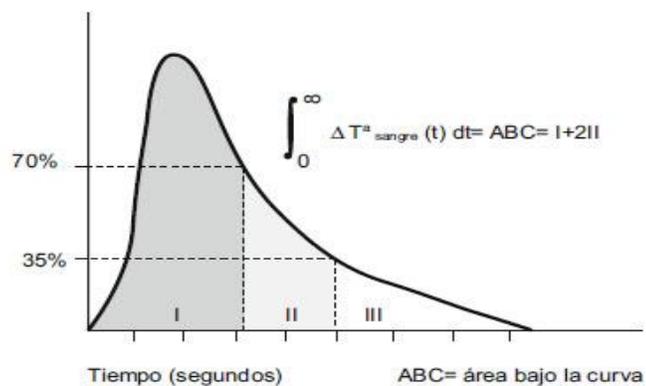
Z = valor Z

La letalidad puede ser determinada en un instante dado, pero si se calcula la sumatoria de todas las letalidades acumuladas, es decir se integra como una función de la temperatura en el tiempo ($L = f(T,t)$), entonces es posible calcular el tiempo equivalente F'' con la siguiente expresión:

$$F = \int_{t_1}^{t_2} L dt$$

Una solución gráfica de esta ecuación sería calcular el área bajo la curva en un gráfico de Temperatura vs. Tiempo, como se muestra en la figura 13.

Figura 13. **Área bajo la curva en un gráfico de Temperatura vs. Tiempo**



Fuente: VIGNOLI, Rafael. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. P. 632.

1.8.9. Valor Fo

Es definido como el “tiempo equivalente” durante el cual un producto ha sido sometido a una temperatura de esterilización determinada. “El concepto de tiempo equivalente necesariamente implica que este tiempo es diferente al tiempo real”⁷. La solución se expresa de la forma siguiente:

$$F = \Delta t * \Sigma 10^{\frac{(T-Tb)}{Z}}$$

Donde:

F = tiempo equivalente (min)

T = temperatura instantánea (°C)

Tb = temperatura base (°C)

Z = valor Z (10 °C)

Δt = intervalo de tiempo (min)

“En el caso particular de la esterilización por vapor saturado, la temperatura base (Tb) es igual a 121 °C y el valor Z es igual a 10 °C, en ese caso el término F se denomina Fo.”⁸

1.9. Lisado de amebocitos de limulus (Método LAL)

Es un método para la detección y cuantificación de endotoxina de bacterias gram negativas (lipopolisacáridos). La prueba de lisado de amebocitos de Limulus (LAL), cuando es utilizada de acuerdo a las directivas de la Administración de Alimentos y Drogas (FDA) de los Estado Unidos, se

⁷ POTTER, Norman. *La Ciencia de los alimentos*. México: Edutex, 1978. P. 183.

⁸ *Ibíd.*

recomienda para cuantificar endotoxinas en la materia prima, incluyendo agua, y para controlar los niveles de endotoxinas durante el proceso de producción. Además, está a prueba oficial a la que se hace referencia en monografías específicas de la USP, que es la Prueba de Endotoxinas Bacterianas USP (USP *Bacterial Endotoxins Test*).

1.9.1. Prueba del Método LAL

El Lisado de Amebocitos de Limulus es un extracto acuoso de las células sanguíneas (amebocitos) del cangrejo de herradura, el *Limulus polyphemus*.

La prueba del Lisado de Amebocitos de Limulus, también llamada LAL, se realiza agregando 0,1 ml de reactivo o 0,1 ml de la muestra a ensayar, en un tubo de reacción despirogenado de vidrio “flint” (cal sódica) de 10 x 75 mm. Se mezcla bien la solución de la reacción y se coloca inmediatamente en una incubadora de bloque seco, o en baño de agua sin circulación, a 37 °C durante 60 minutos.

Al final del período de incubación se remueve el tubo de la incubadora y se invierte. Si se ha formado coágulo y este permanece íntegro en el fondo del tubo de reacción, después de invertirlo 180°, la prueba es positiva. La concentración de endotoxina en el tubo de reacción es mayor o igual a la sensibilidad del reactivo. El objetivo de la prueba es que no existan coágulos dentro de la solución para considerar la prueba exitosa.

Cualquier otro estado de la mezcla de reacción constituye una prueba negativa, que indica una concentración de endotoxina menor que la sensibilidad del reactivo, aun cuando se ha formado un coágulo, pero si el coágulo se rompe o

colapsa al ser invertido, la prueba se considera negativa, esta prueba es rápida y específica.⁹

1.9.1.1. Procedimiento para analizar las muestras

El procedimiento para el análisis deseado se describe a continuación, tomando en cuenta que se debe realizar cada uno de los pasos descritos con mucha consideración, para obtener resultados confiables.

- Colocar en una gradilla la cantidad de tubos despirogenizados necesarios conforme a la cantidad de muestras a analizar.
- Agregarle 0,1 ml de agua estéril a cada tubo despirogenizado.
- Con un algodón humedecido de alcohol desinfectar la ampolla de Frycialgina y quebrarla con cuidado.
- Tomar 0,1 ml de la muestra, controles y estándar, y agregarle al tubo que contiene el agua estéril, respectivamente.
- Agitar para realizar la dilución.
- Tomar 0,1 ml de la dilución y descartar.
- Agregarle 0,1 ml del reactivo LAL reconstituido al tubo con la muestra diluida.
- Mezclar con mucho cuidado y uniformemente la gradilla completa.
- Incubar por 60 minutos a 37 °C.
- Interpretar resultados a los 60 minutos exactamente.

Interpretación de resultado de análisis del producto terminado:

⁹ TORTORA, Gerard., et. al. *Introducción a la microbiología*. Argentina: Editorial Médica panamericana, 2007. P. 189.

- Pirógeno: formación de coágulo en el tubo que no se desprende al girarlo. Reportar: > 0,5 UE/ml. Hay presencia de pirógenos/endotoxinas.
- Apirógeno: al girar el tubo no se forma coágulo y queda solución líquida. Reportar: < 0,5 UE/ml, cumple con el análisis y se aprueba la muestra.

1.10. Prueba de esterilidad

Una de las características más importantes de una solución parenteral es que debe estar estéril, por lo tanto se le debe practicar una prueba de esterilidad. Existen varios métodos dependiendo del material por analizar. En este caso se utiliza el método de transferencia directa.

1.10.1. Método de transferencia directa

Este método utiliza dos medios de cultivo, el caldo tioglicolatado para la detección de microorganismos aerobios y anaerobios, y el caldo de tripticasa de soya, para detectar toda clase de bacterias grampositivas y gramnegativas aerobias.

Se preparan tubos de ensayo con caldo tioglicolatado y tubos con caldo de tripticasa de soya, luego se toma 1 ml de muestra, si es líquida, o 300 mg si es sólida, y se agrega a los tubos de ensayo con los dos tipos de caldo. Si hay crecimiento debe confirmarse por medio de examen microscópico. El resultado se expresa como “cumple” o “no cumple”. Prueba de Esterilidad USP (USP 29, 2006).

1.10.1.1. Procedimiento para analizar las muestras

- Colocar en una gradilla la cantidad de tubos necesarios en cantidades iguales que contengan caldo de tioglicolato y tripticasa soya. Deben estar a temperatura ambiente.
- Desinfectar las ampollas de Frycialgina con algodón humedecido con alcohol.
- Tomar con una pipeta estéril 1 ml de la muestra y agregarle al tubo que contiene caldo de tioglicolato. Cerrar el tubo e invertirlo para que se mezcle homogéneamente.
- Seguidamente, tomar 1 ml de la muestra y agregarle al tubo que contiene caldo de tripticasa soya. Cerrar el tubo e invertirlo para que se mezcle homogéneamente.
- Incubarlo a 35 – 37 °C, revisar diariamente durante 7 días, para ver si existe alguna presencia de turbidez en los tubos.

Interpretación de resultado de análisis:

Si existe turbidez, reportar el análisis como “No cumple” esterilidad.

Si no hay turbidez, reportar el análisis como “Cumple” esterilidad.

Cualquier signo de turbidez indica presencia bacteriana. El análisis está basado en la USP. En los apéndices se muestran tubos de ensayo con caldo de tioglicolato, con el fin de mostrar la apariencia que posee el ensayo descrito.

2. METODOLOGÍA

2.1. Variables

Para el cumplimiento de los objetivos de la presente investigación se toma en cuenta el estudio de la esterilización en autoclave de las soluciones parenterales de bajo volumen, para lo cual es necesario el análisis de las siguientes variables.

2.1.1. Variables de control

Estos son factores de control que se necesita que se mantengan constantes a lo largo de la investigación para validar los resultados obtenidos.

A fin de que un experimento sea confiable, los factores conocidos como variables de control deben mantenerse constantes desde el principio hasta el final del experimento. Esto incluye las condiciones bajo las que se hace el experimento y las cantidades de tiempo que se utiliza una variable.

2.1.2. Definición de variables para esterilización

En la tabla II, en la página siguiente, se muestra una lista de las variables utilizadas en la esterilización por calor húmedo en autoclave de soluciones parenterales. Asimismo, se determina cuáles son constantes y variables.

Tabla II. **Definición de variables para esterilización**

| Análisis de esterilización por calor húmedo en autoclave de soluciones parenterales | | | | | | |
|---|---|------------|----------------------------|-----------|------------------------|-------|
| No. | Variables | Unidad | Factor potencial de diseño | | Factores perturbadores | |
| | | | Constantes | VARIABLES | Controlables | Ruido |
| 1 | Temperatura de esterilización | Celsius | X | | | |
| 2 | Tiempo de esterilización | Minutos | | X | | |
| 3 | Volumen de solución | Mililitros | X | | | |
| 4 | Concentración de la solución en ampolla | mg/ml | X | | | |
| 5 | Presión | Psi | X | | | |
| 6 | Número de soluciones | S/U | X | | | |
| 7 | Tiempo de calentamiento | Celsius | X | | | |
| 8 | Tiempo de enfriamiento | Celsius | X | | | |

Fuente: elaboración propia.

2.1.3. Definición de variables para la determinación del punto frío

En la tabla III, en la página siguiente, se presentan las variables que permitirán determinar la ubicación y el tiempo del punto más frío de la cámara del autoclave. Estas variables afectarán a los parámetros de las soluciones parenterales, que incluyen concentración, número de carga, volumen de la carga, entre otras, así como a las condiciones de la cámara del autoclave, que incluye el tiempo de esterilización, la temperatura de esterilización, entre otras, por calor húmedo.

Tabla III. **Definición de variables de punto frío**

| Análisis de la determinación del punto más frío de esterilización por calor húmedo en autoclave de soluciones parenterales | | | | | | |
|--|---|------------|----------------------------|----------|------------------------|-------|
| No. | Variable | Unidades | Factor potencial de diseño | | Factores perturbadores | |
| | | | Constantes | Variable | Controlables | Ruido |
| 1 | Temperatura del termopar | Celsius | | X | | |
| 2 | Tiempo de calentamiento | minutos | | X | | |
| 3 | Volumen de solución | Mililitros | X | | | |
| 4 | Concentración de la solución en ampolla | mg/ml | X | | | |
| 5 | Presión | Psi | X | | | |
| 6 | Número de soluciones | S/U | X | | | |
| 7 | Temperatura de esterilización | Celsius | X | | | |
| 8 | Tiempo de esterilización | minutos | X | | | |

Fuente: elaboración propia.

2.1.4. Variables de control independientes

Las variables operacionales de control independientes son los factores que se pueden manipular para obtener resultados en las variables dependientes. En la siguiente página, en la tabla IV, se indica la descripción de cada una de las variables independientes, como la temperatura del termopar, el tiempo de calentamiento, la presión de esterilización, la temperatura de esterilización, el tiempo de esterilización, la concentración, el volumen y el número de soluciones de la carga a esterilizar.

Tabla IV. **Definición operacional de variables independientes**

| No. | Nombre | Unidad | Descripción |
|-----|------------------------------|------------|---|
| 1 | Tiempo de esterilización | Celsius | Tiempo necesario para la destruir las esporas bacterianas más resistentes. |
| 2 | Presión | Psi | Presión de operación de la autoclave. |
| 3 | Volumen de solución | mililitros | Cantidad volumétrica por ampolla de solución parenteral. |
| 4 | Concentración de la solución | mg/ml | Cantidad de soluto en miligramos contenido en 100 ml de solución. |
| 5 | Tiempo de calentamiento | Celsius | Tiempo en que se logra estabilizar la temperatura de esterilización en el punto más frío. |
| 6 | Tiempo de enfriamiento | Celsius | Tiempo necesario para disminuir la temperatura de las ampollas de Frycialgina ya esterilizadas. |

Fuente: elaboración propia.

2.1.5. Variables de control dependientes

La variable dependiente se describe como el evento o fenómeno que se está investigando. Reacciona a los cambios de las variables independientes. En la tabla V, en la página siguiente, se muestran las variables dependientes para la determinación del punto frío de la cámara del autoclave para la esterilización de soluciones parenterales.

2.1.6. Variables de control biológico y microbiológico de soluciones parenterales esterilizadas de bajo volumen

En la página siguiente, en la tabla VI, se describe la definición operacional de las variables utilizadas para las pruebas microbiológicas que se realizarán a las soluciones parenterales esterilizadas de bajo volumen.

Tabla V. **Definición de variables dependientes para el punto frío**

| No. | Nombre | Variable Dimensional | Descripción |
|-----|-------------------------------|----------------------|---|
| 1 | Temperatura de esterilización | °C | Temperatura necesaria para la destrucción de las esporas bacterianas más resistentes, la cual es letal dependiendo el tiempo de esterilización. |
| 2 | Temperatura del termopar | °C | Diferentes mediciones de temperatura dentro de la cámara del autoclave o dentro de la carga, depende del tiempo que más tarda en alcanzar la temperatura de esterilización. |

Fuente: elaboración propia.

Tabla VI. **Definición de variables para soluciones parenterales esterilizadas**

| No. | Nombre | Variable Dimensional | Descripción |
|-----|-------------------------|----------------------|--|
| 4 | Endotoxinas bacterianas | UFE/ml | Prueba para determinar endotoxinas bacterianas por formación de coágulo, prueba visual. (< 0,50 Unidades de endotoxina/ml) |
| 5 | Esterilidad | adimensional | Prueba en medios de cultivo para detección de m.o.o aerobios se observa si hay crecimiento microbiano. |

Fuente: elaboración propia.

2.2. Delimitación del campo de estudio

La delimitación propuesta para realizar el presente trabajo es la siguiente:

- Área: operaciones y procesos en la industria farmacéutica y microbiología industrial.
- Campo de estudio: proceso de esterilización en autoclave de soluciones parenterales de bajo volumen.
- Ubicación: Laboratorio Alfa Farmacéutica, S.A.
- Clima: 13 °C – 30 °C en la ciudad de Guatemala.

2.3. Recurso humano disponible

- Investigadora: Iris Iveth Hernández Canales
- Asesora de investigación 1: Inga. Hilda Palma
- Asesora de investigación 2: Lic. Armida de Barillas
- Co-asesora de investigación: Lic. Dalila Sapón Rodríguez
- Operario 1: Jaime López
- Operario 2: Efraín Paz

2.4. Recurso material disponible

El recurso material será todo aquel insumo, equipo o herramientas que se utilizarán durante la preparación y ejecución de la etapa experimental, y posteriormente en la recopilación de datos. La tabla VII, en la página siguiente, describe el contenido del material y equipo utilizado para la realización de la esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen.

Tabla VII. **Material y equipo**

| Descripción | | | |
|-------------|-----------------------------------|--------------------------------|----------------------|
| No. | Materiales e insumos | Equipo | Equipo de protección |
| 1 | Bioindicadores de incubación | Dispositivo <i>data logger</i> | Cofia |
| 2 | Papel carta blanco para impresión | Computadora | Bata |
| 3 | Bolígrafos | Autoclave | Calzado industrial |
| 4 | Cuaderno de apuntes | Termómetros industriales | Mascarilla |
| 5 | Ampollas de vidrio Frycialgina | Cronómetro | Gafas |
| 6 | Cinta Indicadora | Termopares | Guantes de látex |
| 7 | Ampolla química | Manómetros | Casco |

Fuente: elaboración propia.

2.5. Técnica de investigación descriptiva y correlacional

El presente trabajo de investigación será desarrollado por medio de una técnica de investigación descriptiva y correlacional, debido a que la recolección de los datos será de manera independiente. La información será ordenada y analizada para luego ser interpretada, asociando variables mediante un patrón predecible.

2.6. Recolección y ordenamiento de la información

La información será recopilada en el Laboratorio Alfa Farmacéutica S.A., que se dedica a la fabricación de diferentes productos farmacéuticos. Dicha información se obtendrá de las corridas realizadas para determinar los

parámetros de control de la etapa de esterilización, los cuales se verifican con las pruebas de esterilidad, endotoxinas bacterianas y bioindicadores de incubación.

Además de establecer el punto más frío de esterilización de soluciones parenterales en ampolla de vidrio por calor húmedo, estos datos serán graficados y tabulados para tener una mejor percepción de la información recabada.

Durante la etapa de esterilización en autoclave, se realizarán 12 repeticiones para demostrar los parámetros del proceso. Se trabajarán volúmenes de 2 ml para ampollas Frycialgina y serán tabulados los datos de las temperaturas obtenidas por cada termopar, junto al tiempo de esterilización, el de calentamiento (tiempo que tarda en estabilizarse la temperatura para esterilizar) y el tiempo de enfriamiento.

2.6.1. Valores asignados a variables de temperatura de esterilización

Para la etapa de calentamiento, tanto la temperatura como la presión de esterilización van en aumento hasta alcanzar la temperatura de esterilización. Por eso, para determinar el tiempo y la temperatura de esterilización, se probará con las variables descritas en la tabla VIII, en la página siguiente, y se determinan tres sistemas nombrados de la siguiente forma: sistema 1, a 115 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos; sistema 2, a 121 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos, y sistema 3, a 125 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos.

Tabla VIII. **Valores asignados a variables para determinar la temperatura de esterilización**

| Presión de operación | Temperatura de esterilización | Tiempos de esterilización |
|----------------------|-------------------------------|-----------------------------|
| 0,7 bar | 115 °C | 10 minutos = T ₁ |
| 1,05 bar | 121 °C | 15 minutos= T ₂ |
| 1,40 bar | 125 °C | 20 minutos= T ₃ |
| ----- | ----- | 25 minutos= T ₄ |

Fuente: elaboración propia.

2.6.2. Número de muestras

Debido a que los resultados deben ser precisos, se tratará de disminuir los posibles errores utilizando un número de corridas adecuado. Para conseguir lo anterior se utilizará una probabilidad de éxito del 95 %, por lo que conjuntamente la probabilidad de fracaso será de un 5 %, con el 95 % de confianza.

$$N = \frac{Z_{\alpha/2}^2 pq}{e^2}$$

Donde:

Z = confiabilidad

P = probabilidad de éxito

Q = probabilidad de fracaso

E = error estimado

N = número de corridas

Para realizar la investigación se utilizará un error estimado del 0,125. Utilizando la ecuación anterior se obtiene la cantidad de corridas:

$$N = \frac{(1,96)^2 * 0,95 * 0,05}{0,125^2} = 11,67 \approx 12$$

Con el dato obtenido se define que la cantidad de corridas por realizar será de 3 para temperatura y 4 para tiempo de esterilización, lo cual da un total de 12 corridas, para optimizar los parámetros de control en la esterilización.

2.7. Tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información

Para la tabulación, ordenamiento y procesamiento de la información recabada después de realizada la esterilización de soluciones, es necesario determinar los parámetros óptimos de control en la etapa de esterilización, lo cual se describe en la tabla IX.

Tabla IX. **Determinación de parámetros óptimos de control en la etapa de esterilización**

| Determinación de Parámetros de control | | | Autoclave No. 5 | | |
|--|------------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Alfa Farmacéutica, S.A. | Variables de operación | | | | |
| Temperatura esterilización | Presión | Tiempo esterilización | Tiempo esterilización | Tiempo esterilización | Tiempo esterilización |
| 115 °C | 0,70 bar | 10 | 15 | 20 | 25 |
| 121 °C | 1,05 bar | 10 | 15 | 20 | 25 |
| 125 °C | 1,40 bar | 10 | 15 | 20 | 25 |

Fuente: elaboración propia.

2.7.1. Verificación de las cargas de soluciones parenterales con el *test* de esterilidad

Para ordenar los datos de las cargas de soluciones parenterales que ya han sido esterilizadas se tabularán los datos de acuerdo a la tabla X para la realización del *test* de esterilidad.

Tabla X. Verificación de las soluciones parenterales esterilizadas

| Alfa Farmacéutica, S.A. | Verificación de las cargas esterilizadas | | | |
|---------------------------|--|------------|------------|------------|
| Cumple: X No cumple: 0 | Prueba de esterilidad | | | |
| Temperatura/Tiempo | 10 minutos | 15 minutos | 20 minutos | 25 minutos |
| 115 °C | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas |
| 121 °C | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas |
| 125 °C | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas |

Fuente: elaboración propia.

2.7.2. Verificación de las cargas de soluciones parenterales con el análisis de endotoxinas bacterianas

Para ordenar los datos de las cargas de soluciones parenterales que ya han sido esterilizadas se tabularán los datos de acuerdo a la tabla XI, en la siguiente página. Para la realización del análisis por endotoxinas bacterianas se realizará el análisis de cada carga para lo siguiente: sistema 1 a 115 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos; sistema 2 a 121 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos, y sistema 3 a 125 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos.

Tabla XI. **Verificación de las soluciones parenterales esterilizadas de bajo volumen**

| Alfa Farmacéutica, S.A. | Verificación de las cargas esterilizadas | | | |
|-----------------------------------|--|------------|------------|------------|
| Pirógeno: X Apirógeno: 0 | Análisis de endotoxinas bacterianas | | | |
| Temperatura/Tiempo esterilización | 10 minutos | 15 minutos | 20 minutos | 25 minutos |
| 115 °C | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas |
| 121 °C | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas |
| 125 °C | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas | 3 Corridas |

Fuente: elaboración propia.

2.8. Localización del punto más frío dentro de la cámara del autoclave

La tabla XII, en la página siguiente, describe la colocación de cada termopar dentro de la cámara del autoclave: fondo, frente cercana a la compuerta, extremo lateral izquierdo y derecho. Las figuras 14 y 15 ilustran gráficamente la colocación de dichos termopares dentro de la cámara.

2.9. Prueba de exposición de vapor de la carga de soluciones parenterales

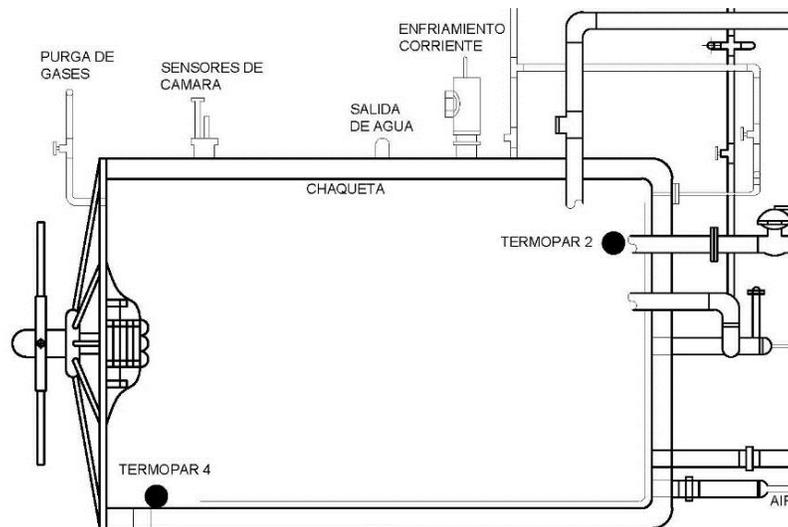
En la tabla XIII, en la página 46, se muestra la tabulación de los datos obtenidos de los bioindicadores 3M Attest, los cuales solo indican exposición a 121 °C después de la exposición a vapor de las soluciones parenterales de bajo volumen, luego de ser esterilizadas por dos días de incubación. Esto solo se realizará para el sistema 2 a 121 °C durante 10, 15, 20 y 25 minutos. Las figuras 16 y 17 muestran cómo son colocadas las ampollas para su esterilización.

Tabla XII. **Localización del punto más frío dentro de la cámara del autoclave**

| Tabla de datos para la localización del punto más frío de la cámara de esterilización | | | |
|---|----------|----------------------------|-------------------------|
| Fecha de toma de datos: | 19/10/12 | Alfa Farmacéutica, S.A. | |
| Autoclave | 1 | Temperatura del Termopar | Tiempo de Calentamiento |
| Presión de operación: | 18,5 psi | | |
| Temperatura de Esterilización: | 121 °C | Tt_1 (fondo) | 10 min. |
| | | Tt_2 (frente o descarga) | 15 min. |
| | | Tt_3 (lateral izquierdo) | 20 min. |
| Concentración de solución (g/ml): | 0,5 | Tt_4 (lateral derecho) | 20 min. |
| Volumen de solución (ml): | 2 | Observaciones: | |
| Número de soluciones dentro del autoclave: | 1 500 | | |

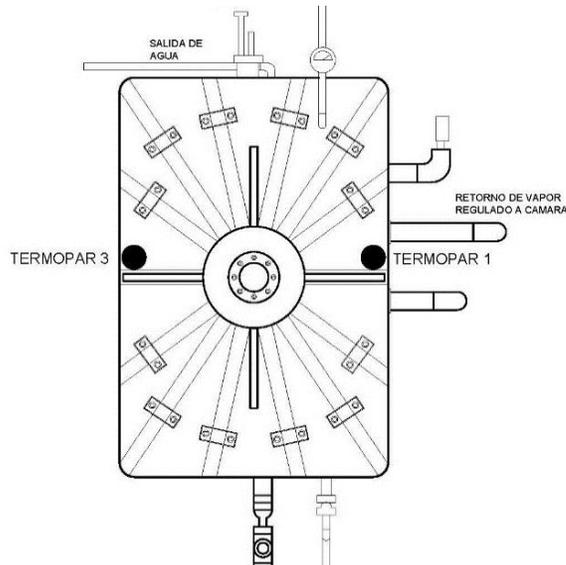
Fuente: elaboración propia.

Figura 14. **Ubicación de los termopares en una elevación lateral**



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD 2015.

Figura 15. **Ubicación de los termopares en una elevación frontal**



Fuente: elaboración propia, empleando AutoCAD 2015.

Tabla XIII. **Prueba dentro de la carga de soluciones parenterales de bajo volumen durante la esterilización**

| Alfa Farmacéutica, S.A. | Verificación de las cargas esterilizadas | | | |
|-----------------------------|--|--|--|--|
| Positivo: + Negativo: -- | Monitoreo con controles químicos | | | |
| Temperatura/ Tiempo | 10 minutos | 15 minutos | 20 minutos | 25 minutos |
| 115 °C | Cinta indicadora | Cinta indicadora | Cinta indicadora | Cinta indicadora |
| 121 °C | Bioindicador, cinta indicadora y ampolla química |
| 125 °C | Cinta indicadora | Cinta indicadora | Cinta indicadora | Cinta indicadora |

Fuente: elaboración propia.

Figura 16. **Colocación de lote de 1 500 ampollas en carretela para esterilización**



Fuente: Laboratorio Alfa Farmacéutica, S. A. *Ampollas en carretela*. Fecha: 9 de octubre del 2012.

Figura 17. **Bandeja con ampollas de Frycialgina**



Fuente: Laboratorio Alfa Farmacéutica, S. A. *Ampollas de Frycialgina*. Fecha: 9 de octubre del 2012.

2.10. Análisis estadístico

Para analizar los resultados obtenidos de las 12 corridas de una forma más efectiva, se utilizarán herramientas estadísticas que describan mejor el comportamiento de la información a medida que se recaba.

2.10.1. Promedio estadístico

El promedio (\bar{a}), será útil para poder encontrar un dato representativo para las variables en cada medición.

$$\bar{a} = \frac{\sum_i^n a_i}{n} = \frac{a_1 + a_2 + \dots + a_n}{n}$$

Donde:

\bar{a} = valor promedio

a_i = valor i

n = número de datos

2.10.2. Desviación estándar

La desviación estándar (S_a), indica la dispersión de los valores para una misma medición, con relación al valor promedio de una forma cuantitativa:

$$S_a = \sqrt{\frac{\sum_i^n |\bar{a} - a_i|}{n - 1}}$$

Donde:

\bar{a} = valor promedio

a_i = valor i

n = número de datos

S_a = desviación estándar de la variable a

2.10.3. Análisis de varianza

Este sirve para determinar el error sistemático de los datos para cada variable y poder determinar si este error es atribuido a factores reales y que puedan comprobarse.

2.10.3.1. Análisis de varianza de un solo factor

El análisis de varianza que se pretende realizar permitirá verificar si se aprueba o rechaza la hipótesis, es decir, si existe diferencia significativa entre la distribución de la temperatura de esterilización entre la cámara vacía y cargada. Por eso, en la tabla XIV, en la siguiente página, se describen las ecuaciones de la suma total de las variables, las cuales son: la suma total de cuadrados (SST), suma de los cuadrados del tratamiento (SSA) y suma de los cuadrados de los errores (SSE). Por otro lado, en la tabla XV, también en la página 50, se muestran las ecuaciones para el análisis de la varianza del ANOVA para un solo factor. La misma tabla indica tres fuentes de variación: tratamiento, error y total, para cada una se determina la suma de cuadrados, grados de libertad, la media cuadrática y por último el factor "f" calculado.

Tabla XIV. **Medidas de variabilidad**

| |
|---|
| $SST = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{..})^2 = \text{suma total de cuadrados}$ |
| $SSA = n \sum_{i=1}^k (y_{i.} - \bar{y}_{..})^2 = \text{suma de los cuadrados del tratamiento}$ |
| $SSE = \sum_{i=1}^k \sum_{j=1}^n (y_{ij} - \bar{y}_{i.})^2 = \text{suma de los cuadrados de los errores}$ |

Fuente: WALPOLE, Ronald. *Probabilidad y estadística para Ingeniería y ciencias*. P.154.

Tabla XV. **Análisis de varianza del ANOVA para un solo factor**

| Fuente de variación | Suma de cuadrados | Grados de libertad | Media cuadrática | f calculada |
|---------------------|-------------------|--------------------|----------------------------|---------------------|
| Tratamientos | SSA | k-1 | $S_1^2 = \frac{SSA}{k-1}$ | $\frac{S_1^2}{S^2}$ |
| Error | SSE | k(n-1) | $S^2 = \frac{SSE}{k(n-1)}$ | |
| Total | SST | kn-1 | | |

Fuente: WALPOLE, Ronald. *Probabilidad y Estadística para Ingeniería y Ciencias*. P. 516.

El factor de Fisher teórico se obtendrá de la tabla de Fisher, con nivel de significancia de 0,05, $v_1 = 1$ y $v_2 = 14$. Si la f calculada es mayor a la f teórica, se rechazará la hipótesis planteada anteriormente.

2.10.3.2. Métodos y modelos de los datos

Con los resultados de las pruebas se determinará si la distribución de la temperatura es constante con la cámara vacía y cargada. Serán comparados y se verificará si existe diferencia significativa entre ellos. El análisis a realizar para aprobar o rechazar la hipótesis nula se basará en el uso de la prueba de Fisher en el ANOVA, con un nivel de significancia de 0,05, es decir si:

$$f_{calculada} > f_{teórica}: \text{Ho rechazado}$$

Ho: no existe diferencia significativa entre la distribución de temperatura de esterilización con la cámara del autoclave vacía y cargada, lo que demuestra que la distribución de temperatura de esterilización se aplica de modo constante a todas y cada una de las cargas a esterilizar, como se muestra en la tabla XVI.

Hi: sí existe diferencia significativa entre la distribución de temperatura de esterilización con la cámara del autoclave vacía y cargada, lo que demuestra que la distribución de temperatura de esterilización no se aplica de modo constante y se ve afectada por la presencia de las cargas a esterilizar. Esto se tabula en la tabla XVIII, en la siguiente página.

Tabla XVI. **Distribución de temperatura trabajando a 121 °C durante 20 minutos con la cámara cargada (ANOVA)**

| Grupos | Cuenta | Suma | Promedio | Varianza |
|---------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Corrida 1 | 21 | 2577,0333 | 122,715873 | 0,508058 |
| Corrida 2 | 21 | 2330,7267 | 122,669825 | 0,253339 |
| Corrida 3 | 21 | 2330,3967 | 122,652456 | 0,487953 |

Fuente elaboración propia.

Tabla XVII. **Prueba de Fisher con la cámara cargada**

| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>GL</i> | <i>Promedio cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
|----------------------------------|--------------------------|-----------|---------------------------|----------|---------------------|-----------------------------|
| Entre grupos | 1,557616096 | 2 | 0,77880805 | 2,0612 | 0,3358 | 3,1623 |
| Dentro de los grupos | 23,50441103 | 56 | 0,4164499 | | | |
| Total | 25,06202712 | 58 | | | | |

Fuente: elaboración propia.

Con base en la prueba de Fisher de la tabla XVII, se concluye: la hipótesis nula es aprobada puesto que $F_{calculada} = 2,0612$ es menor que $F_{teórica} = 3,1623$

Tabla XVIII. **Distribución de temperatura trabajando a 121 °C durante 20 minutos con la cámara vacía (ANOVA)**

| <i>Grupos</i> | <i>Cuenta</i> | <i>Suma</i> | <i>Promedio</i> | <i>Varianza</i> |
|---------------|---------------|-------------|-----------------|-----------------|
| Corrida 1 | 21 | 2573,48 | 122,546667 | 0,36414746 |
| Corrida 2 | 21 | 2446,34333 | 122,317167 | 0,26050447 |
| Corrida 3 | 21 | 2079,89 | 122,346471 | 0,45190539 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XIX. **Prueba de Fisher con la cámara vacía**

| <i>Origen de las variaciones</i> | <i>Suma de cuadrados</i> | <i>GL</i> | <i>Promedio cuadrados</i> | <i>F</i> | <i>Probabilidad</i> | <i>Valor crítico para F</i> |
|----------------------------------|--------------------------|-----------|---------------------------|----------|---------------------|-----------------------------|
| Entre grupos | 1,9733072 | 2 | 0,9866536 | 2,8047 | 0,0712 | 3,1667 |
| Dentro de los grupos | 19,4630205 | 55 | 0,35885244 | | | |
| Total | 21,4363277 | 57 | | | | |

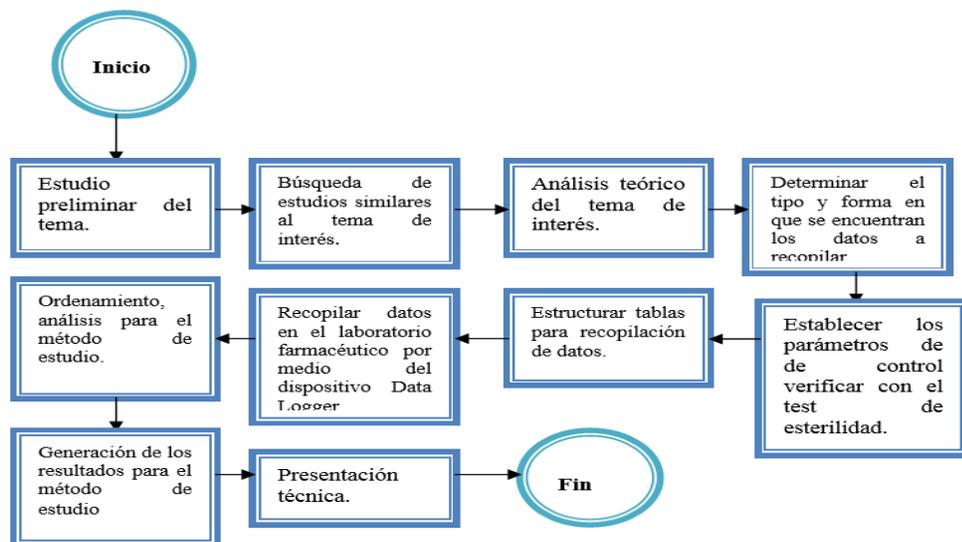
Fuente: elaboración propia.

Con base en la prueba de Fisher, de la tabla XIX se concluye: la hipótesis nula es aprobada puesto que $F_{calculada} = 2,8047$ es menor que $F_{teórica} = 3,1667$.

2.11. Plan de análisis de resultados

En la figura 18 se muestra un diagrama del proceso de análisis que se pretende realizar para este trabajo. De forma generalizada se grafican los pasos seguidos en orden: estudio preliminar del tema, búsqueda de estudios similares al tema de interés, análisis teórico del tema de interés, determinar el tipo y forma en que se encuentran los datos a recopilar, ordenamiento, análisis para el método de estudio, recopilar datos en el laboratorio farmacéutico por medio del dispositivo *data logger*, estructurar las tablas para la recopilación de datos, establecer los parámetros de control confirmados con el *test* de esterilidad, generación de los resultados para el método de esterilización y, por último, presentación técnica.

Figura 18. Diagrama de proceso del plan de análisis



Fuente: elaboración propia.

2.12. Procedimiento para realizar el estudio económico y ambiental

Para la elaboración de la presente investigación, se procederá a recopilar información bibliográfica para la etapa de esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen contenidas en ampollas de 2 ml con solución Frycialgina. Posteriormente a la revisión de la teoría e identificación de las variables dependientes e independientes, y a la elaboración de las tablas de recolección de datos, se procederá a visitar el laboratorio farmacéutico Alfa Farmacéutica, S.A., en donde se recopilará la información requerida para el análisis del problema.

El objetivo del estudio es determinar los parámetros de un autoclave propiedad del laboratorio Alfa Farmacéutica, en el cual se lleva a cabo la etapa de esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen. Para ello se utilizarán termopares como medidores de temperatura, ampollas químicas y cintas indicadoras, así como el dispositivo *Data Logger*, todo ello para mejorar el control de las variables de operación. Para demostrar que las soluciones parenterales cumplen con los parámetros establecidos se verificará con el test de esterilidad, el análisis de endotoxinas bacterianas y el uso de bioindicadores de incubación.

Los datos obtenidos serán tratados, ordenados y graficados con el fin de comparar, analizar y, posteriormente, demostrar que la distribución de la temperatura de esterilización es constante en cada carga y que la penetración de calor es efectiva, a fin de destruir las esporas bacterianas más resistentes, obteniendo un producto inocuo para el ser humano y optimizando las variables del proceso, con lo que se podrá reducir tiempo, pérdidas económicas y el uso de vapor innecesario durante la esterilización.

2.13. Cronograma de actividades

Para llevar una planificación de las actividades a realizar se planteó la formulación de un cronograma de actividades, descrito en la tabla XX, con tiempos aproximados en semanas y meses para la parte experimental de la investigación, que cubre un período de tres meses.

Tabla XX. **Cronograma de actividades**

| Calendario de trabajo de graduación | | | | | | | | | | | | |
|---|------------|--|--|--|---------|--|--|--|-----------|--|--|--|
| Mes | Septiembre | | | | Octubre | | | | Noviembre | | | |
| Semana | | | | | | | | | | | | |
| Actividad | | | | | | | | | | | | |
| Recopilación de datos | | | | | | | | | | | | |
| Tabulación y ordenamiento de datos | | | | | | | | | | | | |
| Procesamiento de datos: Obtención de gráficas y tablas comparativas | | | | | | | | | | | | |
| Análisis de datos | | | | | | | | | | | | |
| Resultados del estudio | | | | | | | | | | | | |

Fuente: elaboración propia.

2.14. Presupuesto

En cada proyecto se necesita tener el control del presupuesto que se dispone para llevarlo a cabo. Como parte de la metodología para el desarrollo

del presente trabajo se realiza una descripción de gastos que se hicieron durante la etapa de investigación. En la tabla XXI se resumen los gastos, detallando precios unitarios y precios globales.

Tabla XXI. Descripción de gastos de investigación

| No. | Descripción | Cantidad | Valor unitario (Q) | Valor Total (Q) |
|-----|----------------------------------|--------------|--------------------|-----------------|
| 1 | Papel carta blanco para imprimir | 350 | 0,10 | 35 |
| 2 | Bolígrafos | 3 | 7 | 21 |
| 3 | Cámara fotográfica | 1 | 1 000 | 1 000 |
| 4 | Zapatos Industriales | 1 | 450 | 450 |
| 5 | Mascarillas | 5 | 20 | 100 |
| 6 | Guantes de látex | 50 | 1,50 | 75 |
| 7 | Cofia | 3 | 10 | 30 |
| 8 | Bata | 1 | 100 | 100 |
| 9 | Computadora portátil | 1 | 3 000 | 3 000 |
| 10 | Cuadernos para apuntes | 2 | 10 | 20 |
| 13 | Transporte urbano | 24 visitas | 15 | 360 |
| 14 | Servicio de asesor | 4 meses | 500 | 2 000 |
| 15 | Cartuchos de tinta de impresora | 2 | 150 | 300 |
| 17 | Impresora | 1 | 400 | 400 |
| 18 | Dispositivo <i>Data Logger</i> | 1 | 10 000 | 10 000 |
| 19 | Autoclave | 1 | 80 000 | 80 000 |
| 20 | Termopares e instalación | 5 | 5 000 | 25 000 |
| 21 | Bioindicadores | 25 | 20 | 500 |
| | | Total | 100 683,6 | 123 791 |

Fuente: elaboración propia.

3. RESULTADOS

3.1. Determinación del punto frío de la cámara del autoclave

En las tablas XXII y XXIII se presenta la ubicación del punto que más tarda en alcanzar la temperatura de esterilización a 121 °C durante 20 minutos. Se realizaron 3 corridas colocando termopares en 4 diferentes ubicaciones. Puede verse en el apéndice 8, tabla 18 a la 20, que la figura 19 ilustra la ubicación en el autoclave.

Tabla XXII. **Ubicación del punto frío con la cámara vacía**

| Ubicación | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 |
|---------------------|-------------------|--------------|-----------------|---------------|
| | Lateral Izquierdo | Fondo Cámara | Lateral Derecho | Frente Cámara |
| Corrida 1 (minutos) | 12 | 10 | 11 | 13 |
| Corrida 2 (minutos) | 11 | 10 | 11 | 13 |
| Corrida 3 (minutos) | 12 | 9 | 12 | 13 |
| Tiempo Promedio | 11,7 | 9,7 | 11,3 | 13,0 |

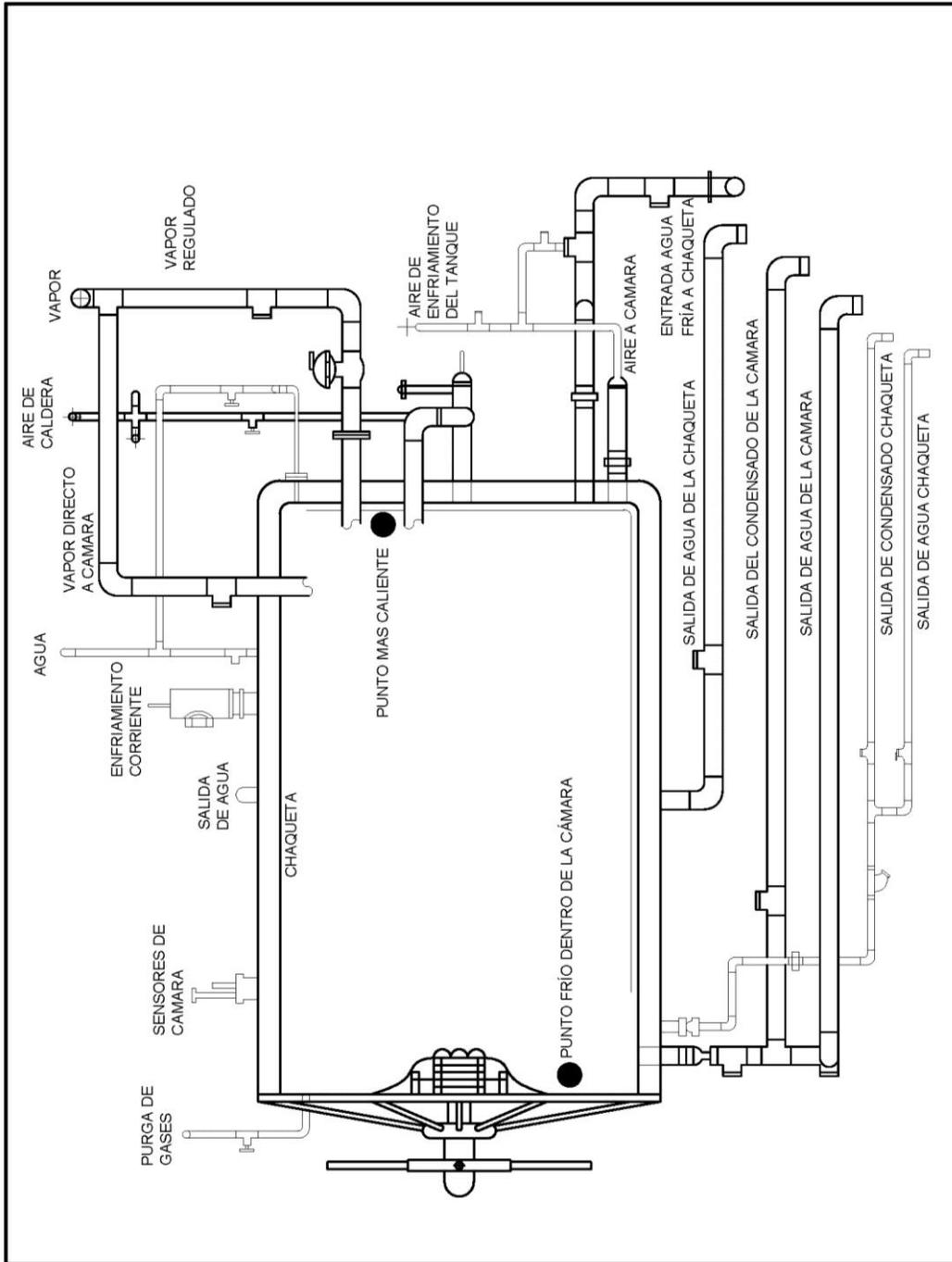
Fuente: elaboración propia.

Tabla XXIII. **Ubicación del punto frío con la cámara cargada**

| Ubicación | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 |
|---------------------|-------------------|--------------|-----------------|---------------|
| | Lateral Izquierdo | Fondo Cámara | Lateral Derecho | Frente Cámara |
| Corrida 1 (minutos) | 12 | 10 | 12 | 13 |
| Corrida 2 (minutos) | 12 | 10 | 12 | 13 |
| Corrida 3 (minutos) | 13 | 10 | 13 | 14 |
| Tiempo Promedio | 12,3 | 10,0 | 12,3 | 13,3 |

Fuente: elaboración propia.

Figura 19. Ubicación del punto frío dentro de la cámara del autoclave



Fuente: elaboración propia.

3.2. Distribución de la temperatura de la cámara del autoclave

En las tablas XXIV y XXV se presenta la diferencia de las temperaturas de los puntos fríos de la cámara con respecto al punto más caliente, trabajando a una temperatura de esterilización de 121 °C durante 20 minutos. Se realizaron 3 corridas colocando termopares en 4 diferentes ubicaciones, con la cámara vacía y cargada. (Ver apéndice 9, tabla 21 a la 26).

Tabla XXIV. **Distribución de temperatura con la cámara vacía**

| Ubicación | Izquierdo $\Delta T_a(T_2-T_1)$ | Derecho $\Delta T_b(T_2-T_3)$ | Frente $\Delta T_c(T_2-T_4)$ |
|-----------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Corrida 1 | 2,13 | 1,43 | 1,49 |
| Corrida 2 | 2,11 | 1,16 | 2,01 |
| Corrida 3 | 2,11 | 1,93 | 1,84 |
| Media | 2,11 | 1,51 | 1,78 |

Fuente: elaboración propia.

Tabla XXV. **Distribución de la temperatura con la cámara cargada**

| Ubicación | Izquierdo $\Delta T_a(T_2-T_1)$ | Derecho $\Delta T_b(T_2-T_3)$ | Frente $\Delta T_c(T_2-T_4)$ |
|-----------|------------------------------------|----------------------------------|---------------------------------|
| Corrida 1 | 1,38 | 1,36 | 1,37 |
| Corrida 2 | 1,99 | 1,25 | 1,96 |
| Corrida 3 | 1,71 | 1,42 | 1,98 |
| Media | 1,69 | 1,34 | 1,77 |

Fuente: elaboración propia.

3.3. Determinación de parámetros de control para sistema 1

En la tabla XXVI se presentan las temperaturas obtenidas en la etapa de esterilización a 115 °C trabajando con presiones de 12 a 13 psi, colocando el termopar en el punto frío con la cámara cargada. (Ver apéndice 1, de la tabla 1 a la 4).

Tabla XXVI. **Temperatura de esterilización de 115 °C**

| Temperatura 115 °C durante 10 minutos | | | |
|--|------------------|------------------|------------------|
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 115,98 | 115,71 | 116,54 |
| Mínima | 115,05 | 115,27 | 115,27 |
| Máxima | 117,17 | 116,27 | 117,66 |
| Desviación Estándar | 0,80 | 0,50 | 0,56 |
| Temperatura 115 °C durante 15 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 116,03 | 115,98 | 116,54 |
| Mínima | 115,16 | 115,05 | 115,27 |
| Máxima | 116,77 | 117,17 | 117,66 |
| Desviación Estándar | 0,47 | 0,80 | 0,53 |
| Temperatura 115 °C durante 20 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 116,58 | 116,43 | 116,07 |
| Mínima | 115,27 | 115,77 | 115,27 |
| Máxima | 117,66 | 117,16 | 117,17 |
| Desviación Estándar | 0,73 | 0,37 | 0,78 |
| Temperatura 115 °C durante 25 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 116,58 | 116,30 | 116,42 |
| Mínima | 115,27 | 115,27 | 115,27 |
| Máxima | 117,66 | 118,16 | 117,66 |
| Desviación Estándar | 0,73 | 0,94 | 0,67 |

Fuente: elaboración propia.

3.4. Determinación de parámetros de control para sistema 2

En la tabla XXVII se presentan las temperaturas obtenidas en la etapa de esterilización a 121 °C trabajando con presiones de 18,5 a 19 psi, colocando el termopar en el punto frío con la cámara cargada. (Ver apéndice 1, de la tabla 5 a la 8).

Tabla XXVII. Temperatura de esterilización 121 °C

| Temperatura 121 °C durante 10 minutos | | | |
|--|------------------|------------------|------------------|
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 122,00 | 121,82 | 122,25 |
| Mínima | 121,16 | 121,15 | 121,15 |
| Máxima | 123,55 | 123,45 | 123,66 |
| Desviación Estándar | 0,72 | 0,74 | 0,85 |
| Temperatura 121 °C durante 15 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 122,41 | 122,05 | 122,00 |
| Mínima | 121,65 | 121,15 | 121,15 |
| Máxima | 123,55 | 123,15 | 123,45 |
| Desviación Estándar | 0,58 | 0,81 | 0,69 |
| Temperatura 121 °C durante 20 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 122,12 | 122,23 | 121,98 |
| Mínima | 121,15 | 121,15 | 121,15 |
| Máxima | 123,65 | 123,60 | 123,66 |
| Desviación Estándar | 0,72 | 0,61 | 0,76 |
| Temperatura 121 °C durante 25 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 122,35 | 122,52 | 122,98 |
| Mínima | 121,15 | 121,15 | 121,65 |
| Máxima | 123,66 | 123,55 | 124,05 |
| Desviación Estándar | 0,78 | 0,78 | 0,76 |

Fuente: elaboración propia.

3.5. Determinación de parámetros de control para sistema 3

En la tabla XXVIII se presentan las temperaturas obtenidas en la etapa de esterilización a 125 °C trabajando con presiones de 21 a 22,5 psi, colocando el termopar en el punto frío con la cámara cargada. (Ver el apéndice 1, tabla 9 a la 12).

Tabla XXVIII. **Temperatura de esterilización a 125 °C**

| Temperatura 125 °C durante 10 minutos | | | |
|--|------------------|------------------|------------------|
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 126,05 | 125,79 | 125,44 |
| Mínima | 125,04 | 125,05 | 125,04 |
| Máxima | 127,55 | 127,54 | 126,55 |
| Desviación Estándar | 0,83 | 0,95 | 0,62 |
| Temperatura 125 °C durante 15 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 125,44 | 125,59 | 125,99 |
| Mínima | 124,95 | 125,05 | 125,05 |
| Máxima | 127,05 | 127,15 | 127,54 |
| Desviación Estándar | 0,72 | 0,75 | 0,91 |
| Temperatura 125 °C durante 20 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 125,95 | 126,82 | 126,18 |
| Mínima | 125,04 | 125,65 | 124,94 |
| Máxima | 127,07 | 127,60 | 127,55 |
| Desviación Estándar | 0,68 | 0,64 | 0,96 |
| Temperatura 125 °C durante 25 minutos | | | |
| Temperatura (°C) | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Media | 125,40 | 126,09 | 125,80 |
| Mínima | 124,95 | 125,04 | 125,04 |
| Máxima | 126,54 | 127,55 | 127,55 |
| Desviación Estándar | 0,47 | 0,80 | 0,70 |

Fuente: elaboración propia.

3.6. Pruebas microbiológicas e indicadoras para sistema 1

En la tabla XXIX se presenta el resultado obtenido de las pruebas microbiológicas después de incubación, de una muestra de 20 ampollas tomadas de la carga total a esterilizar. Se utilizó la cinta indicadora para confirmar la exposición de vapor. (Ver apéndice 12, tabla 5 a la 8, en las cuales se presentan los parámetros establecidos donde la prueba cumple o no cumple).

Tabla XXIX. **Temperatura de esterilización a 115 °C**

| Temperatura 115 °C durante 10 minutos | | | |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | No cumple | No cumple | No cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 115 °C durante 15 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | No cumple | No cumple | No cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 115 °C durante 20 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 115 °C durante 25 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |

Fuente: elaboración propia.

3.7. Pruebas bioindicadoras para sistema 2

En la tabla XXX se presenta el resultado obtenido de las pruebas indicadoras para confirmar la exposición de vapor, colocadas en diferentes puntos entre la carga a esterilizar. En los incisos 1.6.2, 1.6.2.1 y 1.6.3.1 se presentan los parámetros establecidos donde la prueba es positiva o negativa.

Tabla XXX. **Pruebas indicadoras para sistema 2**

| Temperatura 121 °C durante 10 minutos | | | |
|---------------------------------------|-----------|-----------|-----------|
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Ampolla Bioindicador Geobacillus | Negativo | Negativo | Negativo |
| Ampolla ácido benzoico | Positivo | Positivo | Positivo |
| Cinta del bioindicador | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 121 °C durante 15 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Ampolla Bioindicador Geobacillus | Negativo | Negativo | Negativo |
| Ampolla ácido benzoico | Positivo | Positivo | Positivo |
| Cinta del bioindicador | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 121 °C durante 20 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Ampolla Bioindicador Geobacillus | Negativo | Negativo | Negativo |
| Ampolla ácido benzoico | Positivo | Positivo | Positivo |
| Cinta del bioindicador | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 121 °C durante 25 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Ampolla Bioindicador Geobacillus | Negativo | Negativo | Negativo |
| Ampolla ácido benzoico | Positivo | Positivo | Positivo |
| Cinta del bioindicador | Positivo | Positivo | Positivo |

Fuente: elaboración propia.

3.8. Pruebas microbiológicas para sistema 2

En la tabla XXXI se presenta el resultado obtenido de las pruebas microbiológicas después de la esterilización, de una muestra de 20 ampollas tomadas de la carga total. (En el apéndice 12, tabla 1 a la 4, se presentan los parámetros establecidos donde la prueba cumple o no cumple).

Tabla XXXI. **Temperatura de esterilización a 121° Celsius**

| Temperatura 121 °C durante 10 minutos | | | |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | No cumple | No cumple | No cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Temperatura 121 °C durante 15 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Temperatura 121 °C durante 20 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Temperatura 121 °C durante 25 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |

Fuente: elaboración propia.

3.9. Pruebas microbiológicas e indicadoras para sistema 3

En la tabla XXXII se presentan los resultados obtenidos de las pruebas microbiológicas después de incubación, de una muestra de 20 ampollas tomadas de la carga total. Se utilizó la cinta indicadora para confirmar la exposición de vapor. (En el apéndice 12, tabla 9 a la 12, se presentan los parámetros establecidos donde la prueba cumple o no cumple).

Tabla XXXII. **Temperatura de esterilización a 125 °C**

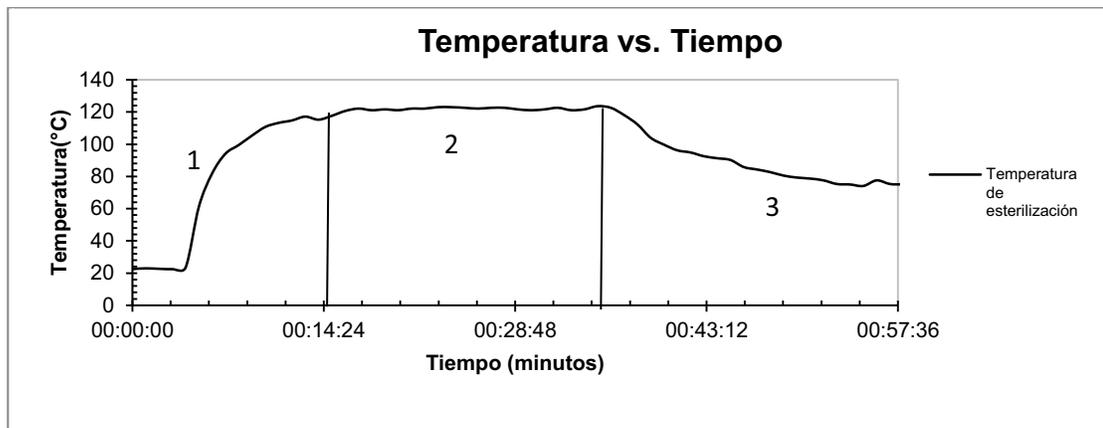
| Temperatura 125 °C durante 10 minutos | | | |
|---------------------------------------|--------------|--------------|--------------|
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | No cumple | No cumple | No cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 125 °C durante 15 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 125 °C durante 20 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |
| Temperatura 125 °C durante 25 minutos | | | |
| Pruebas | Corrida 1 | Corrida 2 | Corrida 3 |
| Prueba de esterilidad | Cumple | Cumple | Cumple |
| Endotoxinas bacterianas | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml | < 0,50 UE/ml |
| Cinta indicadora | Positivo | Positivo | Positivo |

Fuente: elaboración propia.

3.10. Ciclo de esterilización para sistema 2

La figura 20 muestra el perfil de temperatura y tiempo del sistema 2, a 121 °C y 18,5 psi durante 20 minutos de esterilización, de las soluciones parenterales de Frycialgina, indicando la etapa de calentamiento, esterilización y enfriamiento del ciclo total de esterilización descrito en la tabla XXXIII. Este sistema es uno de los más confiables con base en la prueba de esterilidad.

Figura 20. **Ciclo de esterilización a 121 °C durante 20 minutos**



Fuente: elaboración propia.

Tabla XXXIII. **Etapas del ciclo total de esterilización**

| No. | Etapas | Rango de tiempo (minutos) | Tiempo determinado (minutos) |
|-----|----------------|---------------------------|------------------------------|
| 1 | Calentamiento | 0 -12 | 13 |
| 2 | Esterilización | 13 - 33 | 20 |
| 3 | Enfriamiento | 34 - 50 | 17 |
| | Ciclo total | 0-50 | 50 |

Fuente: elaboración propia.

4. DISCUSIÓN DE RESULTADOS

La esterilización en autoclave es la etapa más importante en todo el proceso de fabricación para elaboración de soluciones parenterales, por lo que se hizo necesario establecer parámetros de control de un autoclave para destruir las esporas más resistentes que podrían crecer dentro del producto y provocar su descomposición, causando un daño severo a la salud del consumidor.

El primer parámetro a determinar es el punto frío del autoclave marca *Wilmot Castle Company Rochester*, descrito en el inciso 1.3, para lo cual se colocaron termopares en distintos puntos de la cámara. En las figuras 14 y 15 se muestran las ubicaciones de los termopares denotados como termopar 1 al 4, los cuales están ubicados en el frente, extremo lateral derecho, extremo lateral izquierdo y fondo de la cámara.

Se realizaron 3 pruebas, tanto para cámara vacía como cámara cargada, trabajando el sistema de 121 °C durante 20 minutos a 18,5 psi. Para monitorear la temperatura y los tiempos de esterilización se conectaron los termopares a un *Data Logger*, y este a un equipo de computación, y para medir la presión se utilizaron manómetros industriales. Los resultados se encuentran en las Tablas XXII y XXIII.

Se determinó que el punto frío se localiza en la parte frontal, muy cerca de la compuerta de la cámara, tardando 13 minutos con la cámara vacía y 13,3 minutos con la cámara cargada (ver figura 19). El vapor ingresa por el fondo de la cámara, confirmando que la parte más fría está cerca de la

compuerta. El calentamiento se realizó de manera progresiva, evitando la formación de gradientes muy marcados de temperatura que pudieran dañar el producto o el empaque.

Para establecer que en la cámara del autoclave existe una adecuada distribución de la temperatura, se calculó la diferencia de temperatura del punto caliente menos la temperatura más fría, como lo indica la norma ISO 17665. Esta variación debería ser igual o inferior a 2 °C (ver anexo 3).

Los resultados de las Tablas XXIV y XXV muestran que la temperatura media con la cámara vacía es de 1,78 °C, y con la cámara cargada de 1,77 °C, lo que confirma que la temperatura es estable en toda la cámara. Se realizaron 3 corridas, tanto para cámara vacía como cargada, trabajando el sistema de 121 °C durante 20 minutos a 18,5 psi.

Con base en el análisis estadístico, se obtuvo para las 3 corridas, trabajando el sistema anteriormente descrito, una F calculada de 2,0612 menor que la F teórica 3,1623. Para la cámara vacía y para la cámara cargada la F calculada es de 2,8047 menor a la F teórica de 3,1667, lo que confirma que hay uniformidad en la distribución de temperatura, tanto para la cámara vacía como para la cargada, por lo que la penetración de calor es constante en cada carga a esterilizar. Los resultados se muestran en las Tablas XVI a la XIX.

Se identificó que el fondo de la cámara es el punto más caliente (ver figura 19), ya que por ahí ingresa el vapor generado por caldera, y se estableció que durante la etapa de esterilización este termopar indica 2 °C por encima de los demás termopares. Sin embargo, durante las pruebas realizadas este aumento no causó daño al producto ni al envase, por lo que se puede trabajar con estas condiciones.

Para establecer el tiempo, temperatura y presión para la etapa de esterilización, se dividieron en 3 grupos: sistema 1 a 115 °C y 13 psi; sistema 2 a 121 °C y 19 psi, y sistema 3 a 125 °C y 21,5 psi, durante 10, 15, 20 y 25 minutos por sistema, realizando 12 combinaciones y 3 corridas por combinación para un total de 36 pruebas con la cámara cargada.

Se colocó un sensor de temperatura en el punto frío, en la parte frontal de la cámara cercana a la compuerta del autoclave. Para monitorear la temperatura y los tiempos de esterilización de las 36 pruebas, se conectó el termopar a un *Data Logger*, y este a un equipo de computación para la obtención de datos. Los resultados se muestran en las Tablas XXVI a la XXVIII.

En cada una de las 36 pruebas se llenó la cámara del autoclave con 3 lotes de 500 ampollas de Frycialgina de 10 ml. Se confirmó la exposición de vapor en la carga colocando cintas indicadoras en varias ampollas, las cuales cambiaron de color claro a oscuro, obteniendo resultados positivos, que se muestran en las Tablas XXIX a XXXIII.

Para el sistema 2, a 121 °C y 19 psi, se colocó entre la carga bioindicadores testigo. Después de la esterilización se llevaron a incubación durante 48 horas a 56 °C. La ampolla de *Geobacillus Stearothermophilus* no presentó viraje de color, lo que indica un resultado negativo sin crecimiento microbiano. La etiqueta del vial plástico del bioindicador cambió de color rosa a café, lo que indica la exposición de vapor. Los resultados se presentan en la Tabla XXX. Además se colocaron ampollas químicas de ácido benzoico, las cuales cambiaron de estado sólido a líquido, lo que confirma la exposición de vapor a 121 °C. Los resultados se presentan en la Tabla XXX.

Es importante mencionar que las cintas, bioindicadores y la ampolla química son controles químicos y no aseguran la esterilización. La temperatura monitoreada y registrada por los termopares tampoco es suficiente para confirmar que la temperatura se alcanzó en el seno de la solución parenteral, por lo que se realizó la prueba de endotoxinas bacterianas y la prueba de esterilidad a cada carga esterilizada. Esta última es la prueba determinante para establecer los parámetros óptimos del proceso de esterilización. Estos datos se muestran en las Tablas XXIX a la XXXII.

Con una muestra de 20 ampollas por lote se realizaron las pruebas microbiológicas. Con el resultado de la prueba de esterilidad se confirmó que de las 12 combinaciones se obtuvieron 8 satisfactorias, siendo estas para el sistema 1 a 115 °C durante 20 y 25 minutos; para el sistema 2 a 121°C durante 15, 20 y 25 minutos, y para el sistema 3 a 125 °C durante 15, 20 y 25 minutos.

Los resultados microbiológicos revelan que hay una versatilidad en cuanto a los tiempos y temperaturas en las que se puede trabajar, y se determina que se pueden utilizar 8 combinaciones diferentes para la esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen.

La USP y la Norma ISO 17665 recomiendan trabajar a 121°C durante 15 minutos, o bien utilizar otra combinación de temperatura y tiempo que pueda ser demostrada con el análisis de carga microbiana. Tampoco se pueden generalizar los parámetros de control, porque estos también dependen del tipo de producto y envase a esterilizar, ya que estos pueden dañarse a ciertas temperaturas.

El sistema más confiable con base en la prueba de esterilidad es trabajar a 121 °C y 18,5 psi. En la Tabla XXXIII se muestra el perfil de temperatura: para

la etapa de calentamiento una duración de 13 minutos, para la etapa de esterilización, 20 minutos, y para la etapa de enfriamiento, 17 minutos, para una duración total de tiempo de esterilización de 50 minutos por lote de 1 500 ampollas de solución parenteral.

CONCLUSIONES

1. Se determinó el punto más frío de la cámara, ubicado en la parte frontal cercana a la compuerta del autoclave, tardando 13 minutos en llegar a la temperatura de esterilización.
2. De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis estadístico ANOVA, utilizando el factor de Fisher con un probabilidad del 95 %, se aprueba la hipótesis nula y no existe diferencia significativa para la cámara vacía y cargada, y se confirma que hay uniformidad en la distribución de temperatura dentro de la cámara con y sin carga, por lo que la penetración de calor es constante en cada carga a esterilizar.
3. La prueba de esterilidad revela que hay una versatilidad para usar los tres sistemas de esterilización con los que se pueden establecer los parámetros de temperatura, tiempo y presión en autoclave, lo que confirma que para cualquiera de estas ocho combinaciones, las soluciones parenterales esterilizadas son seguras y de calidad.
4. El sistema a 121 °C y 18,5 psi es uno de los más confiables, con base en la prueba de esterilidad. Para este se graficó el perfil de temperatura: para la etapa de calentamiento tendrá una duración de 13 minutos, para la etapa de esterilización, 20 minutos, y para la etapa de enfriamiento, 17 minutos, para un total de 50 minutos de duración total de esterilización por lote de 1 500 ampollas de solución parenteral.

RECOMENDACIONES

1. Otro parámetro a determinar es el punto frío en el seno de la solución parenteral. Debido a que el envase es una ampolla de vidrio, al recurso y a las condiciones, no se estableció este parámetro dentro de la investigación, sin embargo, es un parámetro importante que puede incluirse para mejorar este estudio y graficar el perfil de temperatura del producto.
2. La industria farmacéutica tiene una variedad de soluciones parenterales, las cuales pueden ser administradas por vía intravenosa o intramuscular, por lo que para ampliar esta investigación se pueden determinar los parámetros de esterilización de otro tipo de solución parenteral de bajo volumen, como las ampollas de cloruro de potasio, para las cuales será necesario realizar un cierto número de pruebas, ya que esta sustancia puede cristalizarse a cierta temperatura.
3. La determinación de parámetros de control de este estudio se estableció para la esterilización en un autoclave rectangular industrial, con capacidad de hasta 3 000 ampollas, sin embargo, estos parámetros pueden ser aplicados para otro tipo de autoclaves de menores dimensiones y forma cilíndrica, por lo que es necesario realizar corridas y pruebas microbiológicas que confirmen la utilización de estos parámetros.

4. Para el monitoreo de la temperatura dentro de la cámara del autoclave rectangular es necesario mayor cantidad de termopares que puedan permitir un mayor control del perfil de temperatura.

BIBLIOGRAFÍA

1. Arian Control & Instrumentation. *Imagen de termopar tipo j*. [en línea]. www.arian.cl. [Consulta: 13 de marzo del 2012.]
2. *Autoclaving, Alternate Methods of Sterilization and Heat Labile Compounds*. [en línea]. www.ucv.ve/fileadmin/user_upload. [Consulta: noviembre del 2013].
3. BAILEY, Scott. *Diagnostico microbiológico*. 12a ed. Argentina: Editorial médica panamericana, 2009. 1160 p.
4. BALCÁRCEL, Miguel. *Nuevo procedimiento de soluciones parenterales masivas en envase de PVC plastificado por medio de calor húmedo en autoclave*. Trabajo de graduación de Ing. Química, Facultad de Ingeniería, Universidad de San Carlos de Guatemala, 2001. 200 p.
5. Escuela de enfermería de la Universidad de Guayaquil, Franco Anabel Cofrée. [en línea]. www.efermeriaug.blogspot.com/soluciones-parenterales. [Consulta: noviembre del 2013]
6. Instrumentación científica técnica. *Imagen de ampolla química*. [en línea]. www.ictsl.net. [Consulta: 23 de marzo de 2012.]
7. KKInstruments. *Imagen de data logger*. [en línea]. www.meter.com.my. [Consulta: 30 de noviembre de 2014]

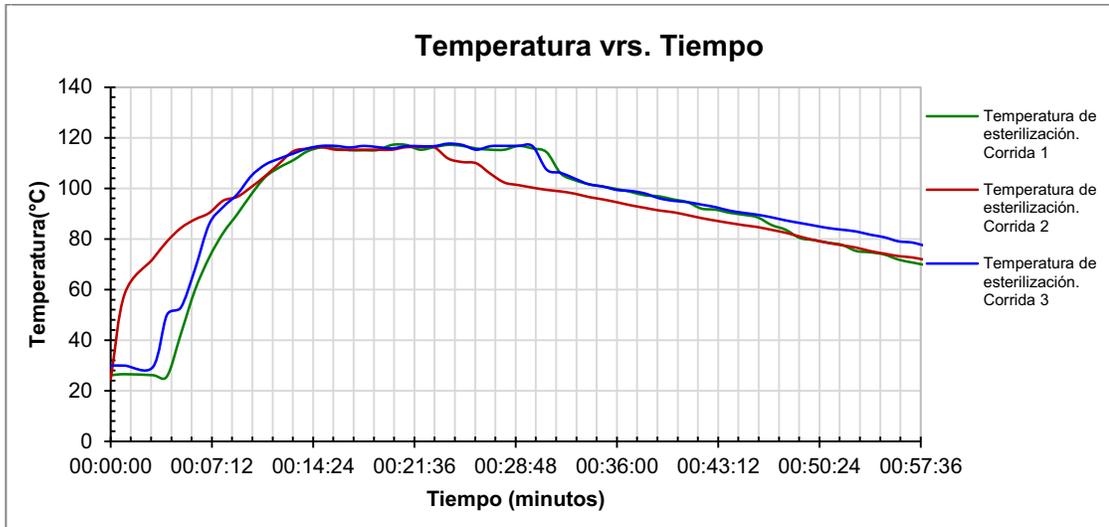
8. Laboratorios Alfa Farmacéutica, S.A. *Fotografía de Autoclave*. [en línea]. www.alfafarmaceutica.com. [Consulta: 9 de octubre del 2012].
9. Laboratorios Alfa Farmacéutico. *Dosificación de Frycialgina*. [en línea]. www.alfafarmaceutica.com. [Consulta: 13 de noviembre de 2014].
10. MURRAY, Patrick R.; ROSENTHAL, Ken S.; PFALLER, Michael A. *Microbiología Médica*. 6a. ed. España: Editorial Elsevier, 2009. 120 p.
11. *Normas ISO*. [en línea]. www.sibum.cl/archivos/normasISO2069. [Consulta: diciembre del 2013].
12. PADRÓN, J. A.; REYES, M. E.; GANDOLFF, C. E. *Validación del ciclo de esterilización*. Grupo Nacional de Validación, Instituto Finlay, Memorias V Congreso de la Sociedad cubana de Bioingeniería, Habana: Sociedad Cubana de Bioingeniería, 2003. 346 p.
13. PELCZAR, Michael J.; REID, Roger D.; CHAN, E.C.S. *Microbiología*. 4a. ed. México: McGraw-Hill, 1977. 378 p.
14. POTTER, Norman N. *La ciencia de los alimentos*. 2a. ed. México: Editorial Edutex, S.A. 1978. 182 p.
15. Quiminet. [en línea]. www.quiminet.com/articulo/nuevas-soluciones-en-validación-termica. [Consulta: octubre del 2013].

16. Quiminet. [en línea] www.quiminet.com/articulos/como-funciona-el-autoclave . [Consulta: octubre del 2013].
17. TRIFONOVA ARKADIEVNA, Elena; LEMUS RODRÍGUEZ, Martha Zoé; CASTRO PU, José. *Validación del proceso de esterilización para soluciones parenterales*. Cuba: 1999. 356 p.
18. TropakPackmittel. *Imagen de indicador biológico*. [en línea] www.tropak.com. [Consulta: 25 de noviembre de 2014].
19. TORTORA, Gerard J.; FUNKE, Berdell R.; CASE, Christine L. *Introducción a la microbiología*. 9a ed. Buenos Aires, Argentina: Editorial Médica Panamericana, 2007. 191 p.
20. WALPOLE, Ronald E. *Probabilidad y estadística para ingeniería y ciencias*. 8a ed. México: Pearson Educación, 2007. 840 p.
21. VAN NESS, Hendrick C. *Introducción a la termodinámica en ingeniería química*. 7a ed. México: McGraw-Hill, 2007. 836 p.
22. VIGNOLI, Rafael. *Esterilización, desinfección y antisepsia*. Uruguay, Editorial Panamericana, 2012. 720 p.

APÉNDICES

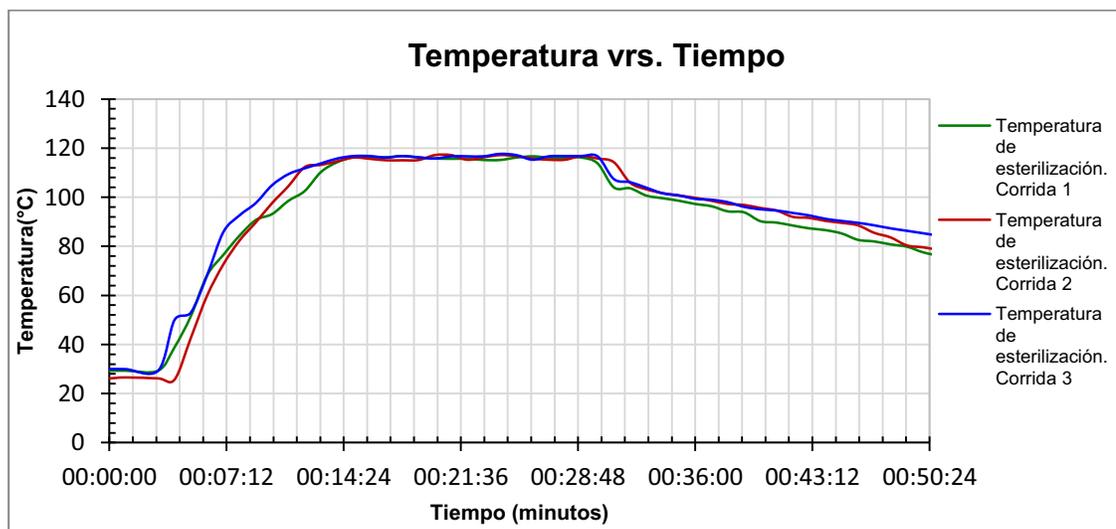
Apéndice 1. Esterilización de ampollas Frycialgina sistema 1

Grafica 1. Esterilización a 115 °C durante 10 minutos



Fuente: elaboración propia.

Grafica 2. Esterilización a 115 °C durante 15 minutos



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 1

Tabla 1. **Datos de esterilización a 115 °C durante 10 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 26,16 | 24,44 | 29,96 | 26 | 115,27 | 105,78 | 116,66 |
| 1 | 26,56 | 58,34 | 29,95 | 27 | 115,27 | 102,28 | 116,77 |
| 2 | 26,16 | 72,1 | 29,36 | 28 | 116,77 | 101,28 | 116,77 |
| 3 | 25,66 | 78,98 | 49,96 | 29 | 115,77 | 100,27 | 116,66 |
| 4 | 42,59 | 84,36 | 52,95 | 30 | 114,27 | 99,39 | 107,39 |
| 5 | 59,83 | 87,75 | 68,11 | 31 | 105,9 | 98,78 | 106,13 |
| 6 | 72,6 | 90,24 | 85,76 | 32 | 103,23 | 97,89 | 103,86 |
| 7 | 82,37 | 95,13 | 92,62 | 33 | 101,65 | 96,57 | 101,6 |
| 8 | 89,75 | 96,63 | 97,64 | 34 | 100,69 | 95,63 | 100,73 |
| 9 | 97,62 | 100,51 | 104,9 | 35 | 99,74 | 94,5 | 99,35 |
| 10 | 104,5 | 104,9 | 109,39 | 36 | 98,56 | 93,28 | 98,96 |
| 11 | 108,28 | 109,89 | 111,77 | 37 | 97,23 | 92,28 | 97,97 |
| 12 | 111,17 | 114,7 | 113,77 | 38 | 96,85 | 91,26 | 96,08 |
| 13 | 114,66 | 115,7 | 115,77 | 39 | 95,63 | 90,56 | 95,08 |
| 14 | 116,17 | 116,27 | 116,77 | 40 | 94,56 | 89,45 | 94,58 |
| 15 | 115,66 | 115,27 | 116,77 | 41 | 92 | 88,25 | 93,58 |
| 16 | 115,05 | 115,27 | 116,16 | 42 | 91,58 | 87,25 | 92,59 |
| 17 | 115,05 | 115,27 | 116,77 | 43 | 90,36 | 86,32 | 91,19 |
| 18 | 115,15 | 115,27 | 116,27 | 44 | 89,56 | 85,45 | 90,32 |
| 19 | 117,16 | 115,27 | 115,77 | 45 | 88,54 | 84,69 | 89,56 |
| 20 | 117,16 | 116,27 | 116,66 | 46 | 85,49 | 83,59 | 88,54 |
| 21 | 115,27 | 116,27 | 116,66 | 47 | 83,63 | 82,45 | 87,32 |
| 22 | 116,27 | 116,27 | 116,66 | 48 | 80,37 | 80,96 | 86,32 |
| 23 | 117,17 | 111,78 | 117,66 | 49 | 79,57 | 79,58 | 85,32 |
| 24 | 116,77 | 110,39 | 117,16 | 50 | 78,54 | 78,45 | 84,32 |
| 25 | 115,77 | 109,89 | 115,27 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 1

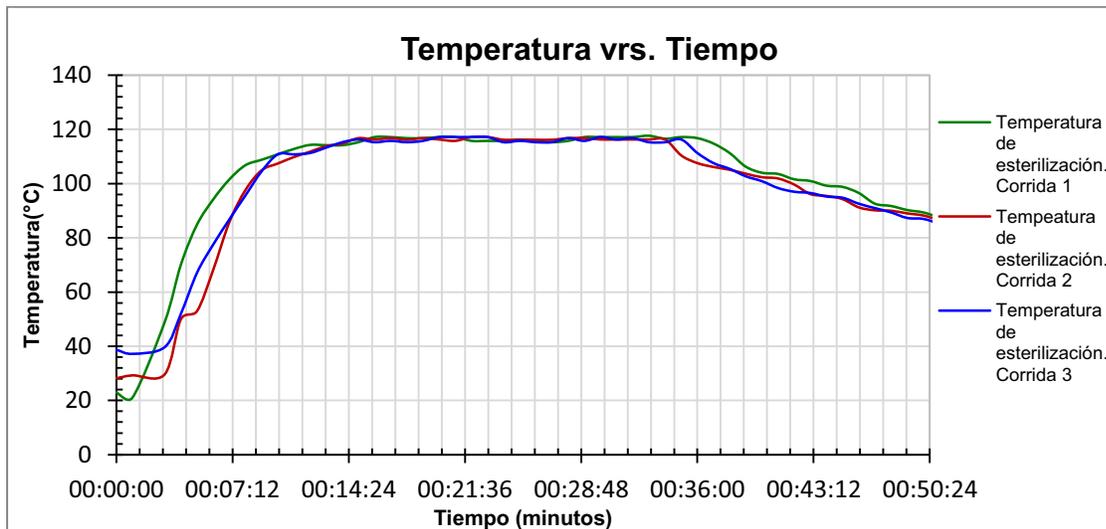
Tabla 2. **Datos de esterilización a 115 °C durante 15 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 29,32 | 26,16 | 29,96 | 26 | 116,16 | 115,27 | 116,66 |
| 1 | 29,32 | 26,56 | 29,95 | 27 | 116,16 | 115,27 | 116,77 |
| 2 | 29,32 | 26,16 | 29,36 | 28 | 116,16 | 116,77 | 116,77 |
| 3 | 38,83 | 25,66 | 49,96 | 29 | 113,78 | 115,77 | 116,66 |
| 4 | 51,46 | 42,59 | 52,95 | 30 | 104 | 114,27 | 107,39 |
| 5 | 68,11 | 59,83 | 68,11 | 31 | 103,63 | 105,9 | 106,13 |
| 6 | 76,49 | 72,6 | 85,76 | 32 | 100,65 | 103,23 | 103,86 |
| 7 | 84,36 | 82,37 | 92,62 | 33 | 99,58 | 101,65 | 101,6 |
| 8 | 90,7 | 89,75 | 97,64 | 34 | 98,56 | 100,69 | 100,73 |
| 9 | 93,14 | 97,62 | 104,9 | 35 | 97,25 | 99,74 | 99,35 |
| 10 | 98,52 | 104,5 | 109,39 | 36 | 96,32 | 98,56 | 98,96 |
| 11 | 102,51 | 112,28 | 111,77 | 37 | 94,23 | 97,23 | 97,97 |
| 12 | 110,27 | 113,17 | 113,77 | 38 | 93,85 | 96,85 | 96,08 |
| 13 | 114,27 | 114,66 | 115,77 | 39 | 90,26 | 95,63 | 95,08 |
| 14 | 116,27 | 116,17 | 116,77 | 40 | 89,65 | 94,56 | 94,58 |
| 15 | 116,27 | 115,66 | 116,77 | 41 | 88,45 | 92 | 93,58 |
| 16 | 116,27 | 115,05 | 116,16 | 42 | 87,32 | 91,58 | 92,59 |
| 17 | 116,77 | 115,05 | 116,77 | 43 | 86,59 | 90,36 | 91,19 |
| 18 | 116,16 | 115,15 | 116,27 | 44 | 85,23 | 89,56 | 90,32 |
| 19 | 115,78 | 117,16 | 115,77 | 45 | 82,63 | 88,54 | 89,56 |
| 20 | 115,66 | 117,16 | 116,66 | 46 | 81,98 | 85,49 | 88,54 |
| 21 | 115,66 | 115,27 | 116,66 | 47 | 80,78 | 83,63 | 87,32 |
| 22 | 115,16 | 116,27 | 116,66 | 48 | 79,85 | 80,37 | 86,32 |
| 23 | 115,16 | 117,17 | 117,66 | 49 | 77,56 | 79,57 | 85,32 |
| 24 | 116,16 | 116,77 | 117,16 | 50 | 76,12 | 78,54 | 84,32 |
| 25 | 116,66 | 115,77 | 115,27 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

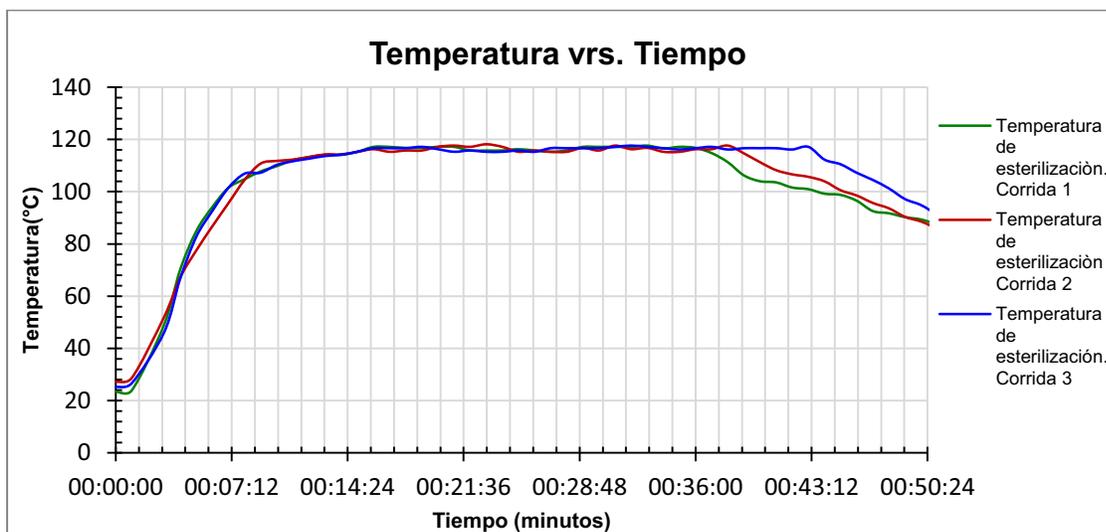
Continuación de Apéndice 1

Grafica 3. Esterilización a 115 °C durante 20 minutos



Fuente: elaboración propia.

Grafica 4. Esterilización a 115 °C durante 25 minutos



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 1

Tabla 3. **Datos de esterilización a 115 °C durante 20 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 22,94 | 28,2 | 38,7 | 26 | 115,27 | 116,17 | 115,27 |
| 1 | 21,05 | 29,26 | 37,2 | 27 | 115,77 | 116,77 | 116,77 |
| 2 | 48,97 | 29,65 | 39,69 | 28 | 117,16 | 116,77 | 115,77 |
| 3 | 70,1 | 49,96 | 51,96 | 29 | 117,16 | 116,27 | 117,17 |
| 4 | 84,86 | 52,95 | 67,11 | 30 | 117,16 | 116,27 | 116,27 |
| 5 | 94,13 | 68,11 | 77,48 | 31 | 117,16 | 116,27 | 116,77 |
| 6 | 101,51 | 85,76 | 86,76 | 32 | 117,66 | 116,27 | 115,27 |
| 7 | 106,78 | 97,62 | 95,63 | 33 | 116,55 | 116,27 | 115,27 |
| 8 | 108,78 | 104,9 | 104,5 | 34 | 117,17 | 110,39 | 116,27 |
| 9 | 110,78 | 107,39 | 110,78 | 35 | 116,77 | 107,56 | 111,28 |
| 10 | 112,77 | 109,78 | 110,78 | 36 | 114,77 | 106,13 | 107,56 |
| 11 | 114,27 | 111,77 | 111,28 | 37 | 111,28 | 105,12 | 105,45 |
| 12 | 114,16 | 113,77 | 113,27 | 38 | 106,23 | 103,65 | 102,69 |
| 13 | 114,16 | 114,77 | 115,27 | 39 | 104 | 102,36 | 100,89 |
| 14 | 115,27 | 116,77 | 116,27 | 40 | 103,56 | 101,89 | 98,36 |
| 15 | 117,16 | 116,27 | 115,27 | 41 | 101,58 | 99,65 | 97 |
| 16 | 117,16 | 116,77 | 115,77 | 42 | 100,96 | 96,13 | 96,54 |
| 17 | 116,77 | 116,16 | 115,27 | 43 | 99,23 | 95,45 | 95,23 |
| 18 | 116,77 | 116,77 | 115,77 | 44 | 98,78 | 94,25 | 94,78 |
| 19 | 117,17 | 116,27 | 117,17 | 45 | 96,54 | 91,23 | 92,58 |
| 20 | 117,17 | 115,77 | 117,17 | 46 | 92,58 | 90,14 | 90,96 |
| 21 | 115,77 | 117,16 | 117,17 | 47 | 91,74 | 89,99 | 89,37 |
| 22 | 115,77 | 117,16 | 117,17 | 48 | 90,25 | 89,01 | 87,32 |
| 23 | 115,77 | 116,17 | 115,27 | 49 | 89,36 | 88,23 | 86,98 |
| 24 | 116,27 | 116,17 | 115,77 | 50 | 87,52 | 86,54 | 85,24 |
| 25 | 115,77 | 116,17 | 115,27 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 1

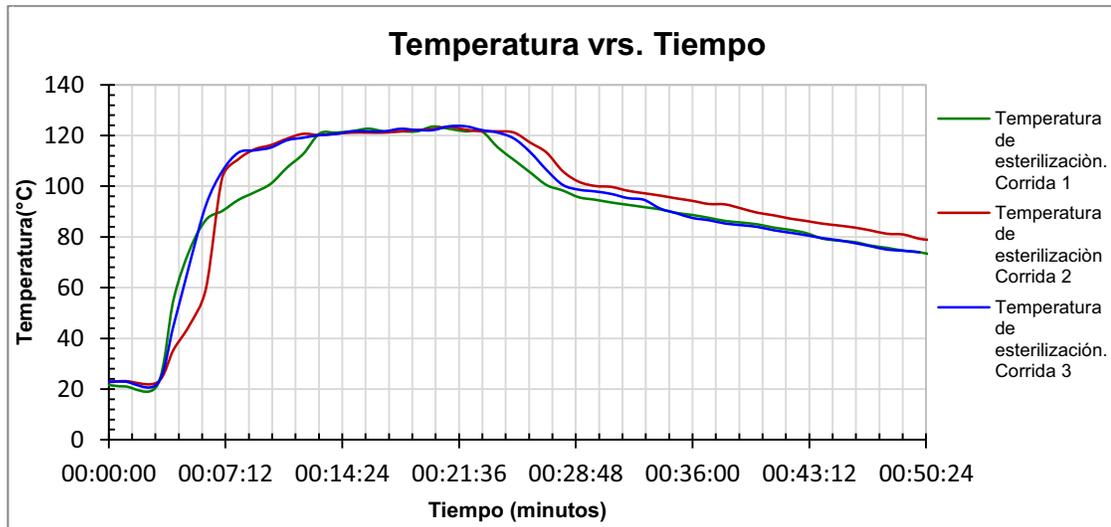
Tabla 4. **Datos de esterilización a 115 °C durante 25 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 23,44 | 27,2 | 25,2 | 26 | 115,27 | 115,27 | 116,66 |
| 1 | 23,94 | 28,7 | 26,7 | 27 | 115,77 | 115,27 | 116,66 |
| 2 | 48,97 | 51,96 | 46,08 | 28 | 117,16 | 116,77 | 116,66 |
| 3 | 70,1 | 67,11 | 66,61 | 29 | 117,16 | 115,77 | 116,66 |
| 4 | 84,86 | 77,48 | 82,71 | 30 | 117,16 | 117,66 | 117,17 |
| 5 | 94,13 | 86,76 | 92,64 | 31 | 117,16 | 116,27 | 117,66 |
| 6 | 101,51 | 95,63 | 101,51 | 32 | 117,66 | 116,77 | 117,17 |
| 7 | 104,78 | 104,5 | 106,9 | 33 | 116,55 | 115,27 | 116,66 |
| 8 | 107,78 | 110,78 | 107,28 | 34 | 117,17 | 115,27 | 116,16 |
| 9 | 109,78 | 111,78 | 110,27 | 35 | 116,77 | 116,27 | 116,66 |
| 10 | 112,1 | 112,28 | 111,66 | 36 | 114,77 | 116,27 | 117,17 |
| 11 | 113,27 | 113,27 | 112,66 | 37 | 111,28 | 117,66 | 116,16 |
| 12 | 114,16 | 114,27 | 113,66 | 38 | 106,23 | 114,67 | 116,65 |
| 13 | 114,1 | 114,27 | 114,17 | 39 | 104 | 111,28 | 116,66 |
| 14 | 115,27 | 115,27 | 115,27 | 40 | 103,56 | 108,23 | 116,66 |
| 15 | 117,16 | 116,27 | 116,66 | 41 | 101,58 | 106,64 | 116,16 |
| 16 | 117,16 | 115,27 | 116,66 | 42 | 100,96 | 105,69 | 117,17 |
| 17 | 116,77 | 115,77 | 116,66 | 43 | 99,23 | 103,98 | 112,28 |
| 18 | 116,77 | 115,77 | 117,17 | 44 | 98,78 | 100,55 | 110,5 |
| 19 | 117,17 | 117,17 | 116,27 | 45 | 96,54 | 98,54 | 107,25 |
| 20 | 117,17 | 117,66 | 115,28 | 46 | 92,58 | 95,69 | 104,5 |
| 21 | 115,77 | 117,17 | 115,78 | 47 | 91,74 | 93,63 | 101,24 |
| 22 | 115,77 | 118,16 | 115,27 | 48 | 90,25 | 90,37 | 97,17 |
| 23 | 115,77 | 117,17 | 115,27 | 49 | 89,36 | 88,57 | 94,86 |
| 24 | 116,27 | 115,27 | 115,77 | 50 | 87,52 | 85,95 | 91,24 |
| 25 | 115,77 | 115,77 | 115,27 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

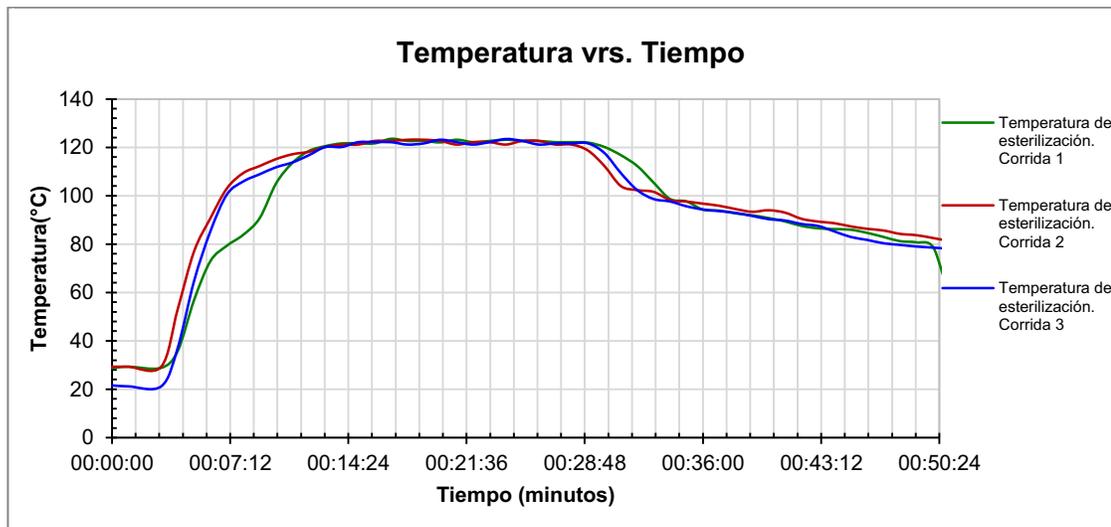
Apéndice 2. Esterilización de ampollas Frycialgina sistema 2

Grafica 5. Esterilización a 121 °C durante 10 minutos



Fuente: elaboración propia.

Grafica 6. Esterilización a 121 °C durante 15 minutos



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 2

Tabla 5. **Datos de esterilización a 121 °C durante 10 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 21,55 | 22,65 | 22,94 | 26 | 100,46 | 113,28 | 106,4 |
| 1 | 21,05 | 23,15 | 22,94 | 27 | 98,32 | 105,9 | 100,51 |
| 2 | 21,56 | 22,65 | 22,05 | 28 | 95,63 | 101,74 | 98,63 |
| 3 | 55,35 | 35,54 | 45,08 | 29 | 94,68 | 100,1 | 97,95 |
| 4 | 74,99 | 45,4 | 69,61 | 30 | 93,58 | 99,74 | 96,96 |
| 5 | 86,76 | 59,79 | 92,64 | 31 | 92,68 | 98,23 | 95,32 |
| 6 | 90,24 | 103,38 | 105,9 | 32 | 91,78 | 97,25 | 94,65 |
| 7 | 94,63 | 110,66 | 113,27 | 33 | 90,87 | 96,32 | 91,21 |
| 8 | 97,62 | 114,58 | 114,16 | 34 | 89,5 | 95,21 | 89,36 |
| 9 | 101,01 | 116,23 | 115,27 | 35 | 88,65 | 94,23 | 87,48 |
| 10 | 107,39 | 118,78 | 118,16 | 36 | 87,54 | 93 | 86,61 |
| 11 | 112,78 | 120,69 | 119,15 | 37 | 86,32 | 92,85 | 85,32 |
| 12 | 120,78 | 120,15 | 120,16 | 38 | 85,69 | 91,25 | 84,65 |
| 13 | 121,16 | 120,69 | 120,66 | 39 | 84,97 | 89,56 | 83,96 |
| 14 | 121,69 | 121,15 | 121,65 | 40 | 83,69 | 88,54 | 82,65 |
| 15 | 122,7 | 121,15 | 121,65 | 41 | 82,78 | 87,25 | 81,69 |
| 16 | 121,65 | 121,15 | 121,65 | 42 | 81,54 | 86,32 | 80,69 |
| 17 | 121,65 | 121,65 | 122,66 | 43 | 79,36 | 85,25 | 79,54 |
| 18 | 121,65 | 122,16 | 122,16 | 44 | 78,54 | 84,52 | 78,69 |
| 19 | 123,55 | 122,56 | 122,15 | 45 | 77,98 | 83,69 | 77,58 |
| 20 | 122,65 | 123,45 | 123,66 | 46 | 76,58 | 82,54 | 76,32 |
| 21 | 121,65 | 122,34 | 123,66 | 47 | 75,69 | 81,25 | 75 |
| 22 | 121,65 | 121,65 | 122,15 | 48 | 74,59 | 80,96 | 74,58 |
| 23 | 115,26 | 121,65 | 121,15 | 49 | 73,98 | 79,28 | 73,96 |
| 24 | 110,32 | 121,15 | 118,78 | 50 | 72,69 | 78,56 | 72,48 |
| 25 | 105,39 | 117,17 | 113,39 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 2

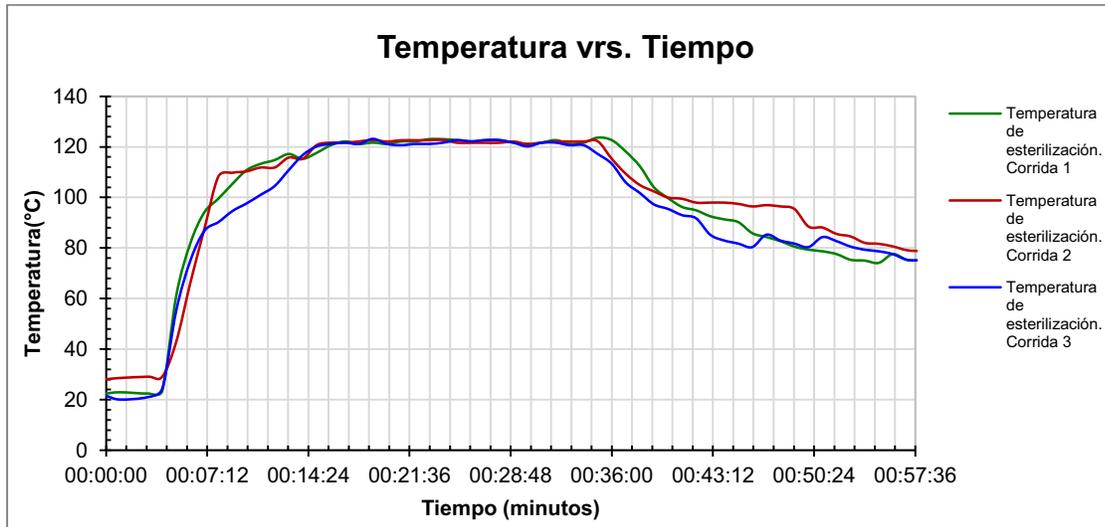
Tabla 6. **Datos de esterilización a 121 °C durante 15 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 28,83 | 29,32 | 21,59 | 26 | 122,15 | 121,15 | 121,65 |
| 1 | 29,32 | 29,32 | 21,19 | 27 | 122,15 | 121,15 | 121,65 |
| 2 | 28,83 | 29,32 | 21,19 | 28 | 121,96 | 118,66 | 121,65 |
| 3 | 35,71 | 52,96 | 36,96 | 29 | 120,16 | 112,28 | 117,66 |
| 4 | 56,84 | 76,98 | 64,72 | 30 | 116,77 | 104 | 109,36 |
| 5 | 73 | 90,74 | 85,36 | 31 | 112,28 | 102,32 | 102,32 |
| 6 | 79,32 | 103,01 | 100,51 | 32 | 105,4 | 101,6 | 98,63 |
| 7 | 83,86 | 109,39 | 105,9 | 33 | 98,63 | 98,236 | 97,62 |
| 8 | 90,74 | 112,28 | 108,89 | 34 | 97,65 | 97,6 | 95,63 |
| 9 | 105,13 | 115,16 | 111,78 | 35 | 94,23 | 96,73 | 94,32 |
| 10 | 113,62 | 117,16 | 113,78 | 36 | 93,85 | 95,84 | 93,65 |
| 11 | 118,51 | 118,16 | 116,77 | 37 | 92,68 | 94,47 | 92,89 |
| 12 | 120,51 | 120,16 | 120,16 | 38 | 91,89 | 93,35 | 91,64 |
| 13 | 121,65 | 121,15 | 120,15 | 39 | 90,78 | 94 | 90,32 |
| 14 | 121,65 | 121,15 | 122,15 | 40 | 89,36 | 93 | 89,76 |
| 15 | 121,65 | 122,66 | 122,15 | 41 | 87,52 | 90,46 | 88,32 |
| 16 | 123,55 | 122,65 | 122,15 | 42 | 86,54 | 89,32 | 87,52 |
| 17 | 122,65 | 123,15 | 121,15 | 43 | 86,21 | 88,65 | 85,26 |
| 18 | 122,65 | 123,15 | 121,65 | 44 | 85,96 | 87,32 | 82,96 |
| 19 | 122,05 | 122,65 | 123,15 | 45 | 84,65 | 86,32 | 81,74 |
| 20 | 123,15 | 121,15 | 122,15 | 46 | 82,96 | 85,63 | 80,35 |
| 21 | 122,15 | 122,15 | 121,15 | 47 | 81,23 | 84,23 | 79,69 |
| 22 | 122,65 | 122,15 | 122,16 | 48 | 80,74 | 83,69 | 79 |
| 23 | 123,15 | 121,15 | 123,45 | 49 | 79 | 82,54 | 78,56 |
| 24 | 122,65 | 122,66 | 122,65 | 50 | 63 | 81,32 | 77,99 |
| 25 | 122,65 | 122,66 | 121,15 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

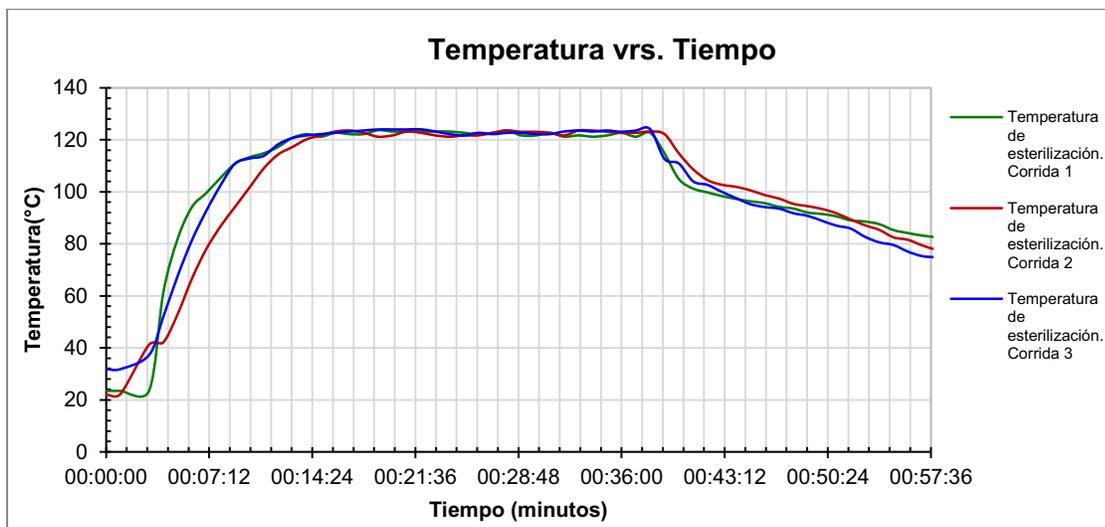
Continuación de Apéndice 2

Grafica 7. Esterilización a 121 °C durante 20 minutos



Fuente: elaboración propia.

Grafica 8. Esterilización a 121 °C durante 25 minutos



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 2

Tabla 7. **Datos de esterilización a 121 °C durante 20 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 22,94 | 28,59 | 20,05 | 26 | 121,65 | 123,1 | 122,65 |
| 1 | 32,81 | 29,09 | 21,05 | 27 | 121,15 | 123,6 | 121,65 |
| 2 | 61,23 | 29,09 | 24,44 | 28 | 121,65 | 122,1 | 122,16 |
| 3 | 81,87 | 42,98 | 55,35 | 29 | 122,65 | 122,1 | 121,65 |
| 4 | 94,13 | 66,24 | 74,99 | 30 | 121,16 | 122,1 | 121,66 |
| 5 | 99,52 | 87,57 | 86,76 | 31 | 121,66 | 122,2 | 120,66 |
| 6 | 105,4 | 108,31 | 90,24 | 32 | 123,65 | 115,26 | 120,66 |
| 7 | 110,78 | 109,76 | 94,63 | 33 | 122,65 | 109,32 | 117,17 |
| 8 | 113,28 | 110,31 | 97,62 | 34 | 118,11 | 104,89 | 113,28 |
| 9 | 114,77 | 111,83 | 101,01 | 35 | 112,32 | 102,37 | 105,9 |
| 10 | 117,17 | 115,83 | 104,5 | 36 | 104 | 99,96 | 101,74 |
| 11 | 115,27 | 118,76 | 110,78 | 37 | 99,74 | 99,45 | 97,23 |
| 12 | 119,66 | 119,65 | 118,77 | 38 | 96,23 | 97,94 | 95,45 |
| 13 | 121,66 | 120,66 | 121,16 | 39 | 94,9 | 97,94 | 92,98 |
| 14 | 122,15 | 121,15 | 121,17 | 40 | 92,56 | 97,94 | 91,74 |
| 15 | 121,15 | 122,67 | 121,66 | 41 | 91,32 | 97,44 | 85,26 |
| 16 | 121,66 | 122,1 | 121,15 | 42 | 90,23 | 96,43 | 82,96 |
| 17 | 121,16 | 122,61 | 123,15 | 43 | 85,85 | 96,94 | 81,74 |
| 18 | 122,15 | 122,61 | 122,45 | 44 | 84,32 | 96,43 | 80,35 |
| 19 | 122,15 | 122,61 | 123,66 | 45 | 82,69 | 95,43 | 85,26 |
| 20 | 123,05 | 122,71 | 121,15 | 46 | 80,54 | 88,48 | 82,96 |
| 21 | 123,04 | 121,6 | 121,15 | 47 | 79,32 | 88,08 | 81,74 |
| 22 | 122,65 | 121,6 | 121,65 | 48 | 78,69 | 85,56 | 80,35 |
| 23 | 122,15 | 121,6 | 122,65 | 49 | 77,58 | 84,56 | 84,32 |
| 24 | 122,65 | 121,6 | 122,15 | 50 | 75,32 | 82,04 | 82,69 |
| 25 | 122,65 | 122,1 | 122,65 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 2

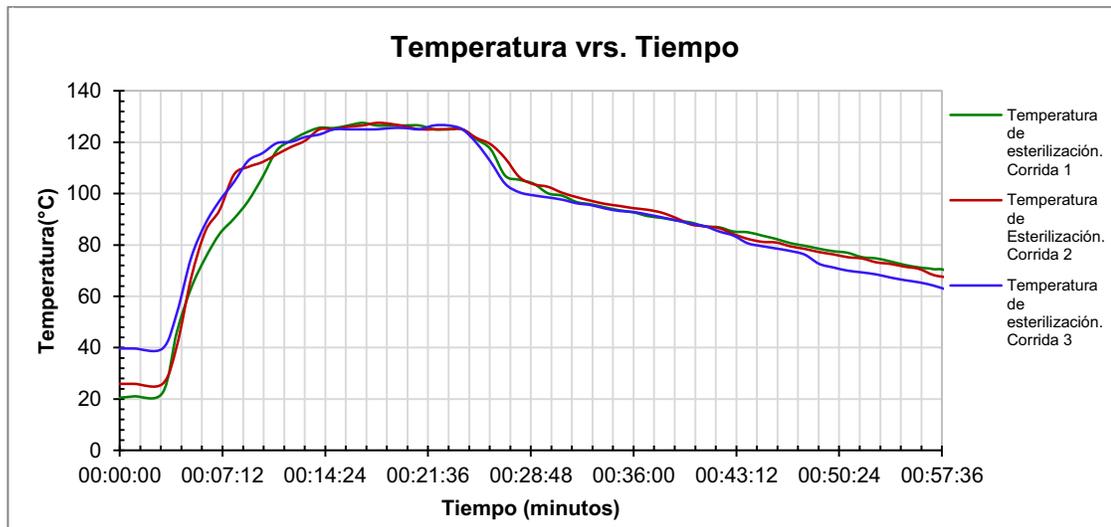
Tabla 8. **Datos de esterilización a 121 °C durante 25 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 23,44 | 22,09 | 31,82 | 26 | 122,65 | 122,65 | 122,15 |
| 1 | 23,44 | 22,23 | 31,82 | 27 | 123,55 | 123,55 | 122,65 |
| 2 | 23,44 | 41,19 | 37,2 | 28 | 121,65 | 123,05 | 122,65 |
| 3 | 61,23 | 42,09 | 51,96 | 29 | 121,65 | 123,05 | 122,15 |
| 4 | 81,87 | 52,95 | 67,61 | 30 | 122,65 | 122,65 | 122,15 |
| 5 | 94,13 | 66,61 | 81,37 | 31 | 121,16 | 121,66 | 123,15 |
| 6 | 99,52 | 77,98 | 92,64 | 32 | 121,66 | 123,55 | 123,55 |
| 7 | 105,4 | 86,76 | 102,51 | 33 | 121,15 | 123,54 | 123,15 |
| 8 | 110,78 | 94,13 | 110,78 | 34 | 121,65 | 123,05 | 123,55 |
| 9 | 113,28 | 101,51 | 112,78 | 35 | 122,65 | 122,65 | 123,05 |
| 10 | 114,77 | 108,89 | 113,78 | 36 | 121,16 | 122,65 | 123,54 |
| 11 | 117,17 | 114,27 | 118,16 | 37 | 122,65 | 123,15 | 124,05 |
| 12 | 120,66 | 117,17 | 120,65 | 38 | 114,77 | 122,15 | 112,63 |
| 13 | 122,15 | 120,16 | 121,65 | 39 | 104,9 | 114,77 | 110,89 |
| 14 | 121,15 | 121,65 | 122,15 | 40 | 101,23 | 108,62 | 104 |
| 15 | 122,66 | 123,15 | 122,65 | 41 | 99,75 | 104,5 | 102,65 |
| 16 | 122,15 | 123,55 | 123,15 | 42 | 98,36 | 102,69 | 99,98 |
| 17 | 122,15 | 122,65 | 123,55 | 43 | 97,25 | 101,89 | 97,56 |
| 18 | 123,66 | 121,16 | 123,95 | 44 | 96,32 | 100,54 | 95,23 |
| 19 | 123,16 | 121,65 | 123,95 | 45 | 95,63 | 98,74 | 94,12 |
| 20 | 123,16 | 123,15 | 123,95 | 46 | 94,21 | 97,38 | 93,52 |
| 21 | 123,15 | 122,65 | 124 | 47 | 93,54 | 95,34 | 91,75 |
| 22 | 123,15 | 121,65 | 123,15 | 48 | 92 | 94,46 | 90,74 |
| 23 | 123,15 | 121,15 | 122,15 | 49 | 91,454 | 93,38 | 88,84 |
| 24 | 122,65 | 121,66 | 121,65 | 50 | 90,56 | 91,74 | 86,98 |
| 25 | 122,15 | 121,66 | 122,65 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

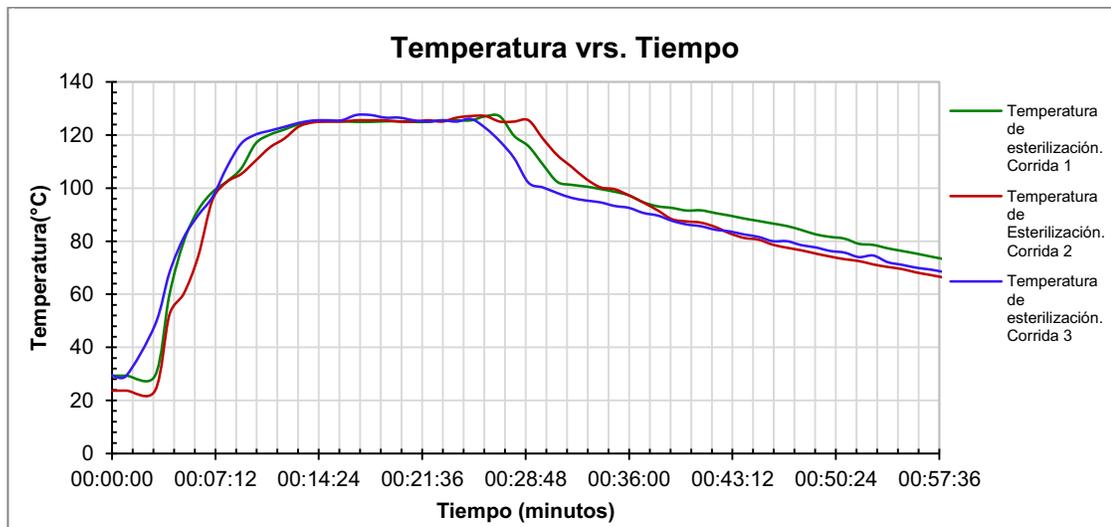
Apéndice 3. Esterilización de ampollas Frycialgina sistema 3

Gráfica 9. Esterilización a 125 °C durante 10 minutos



Fuente: elaboración propia.

Gráfica 10. Esterilización a 125 °C durante 15 minutos



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 3

Tabla 9. **Datos de esterilización a 125 °C durante 10 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 20,55 | 25,93 | 39,69 | 26 | 107 | 113,78 | 103,86 |
| 1 | 21,05 | 25,93 | 39,69 | 27 | 105,39 | 106,4 | 100,51 |
| 2 | 22,44 | 25,93 | 39,69 | 28 | 103,86 | 103,63 | 99,32 |
| 3 | 46,08 | 40,69 | 53,45 | 29 | 100,11 | 102,65 | 98,52 |
| 4 | 63,22 | 67,11 | 74,99 | 30 | 99,18 | 100,32 | 97,64 |
| 5 | 74,99 | 85,366 | 88,25 | 31 | 96,73 | 98,65 | 96,25 |
| 6 | 84,36 | 93,63 | 97,27 | 32 | 95,84 | 97,23 | 95,54 |
| 7 | 90,24 | 107,39 | 104,5 | 33 | 94,63 | 96 | 94,23 |
| 8 | 97,12 | 110,39 | 112,79 | 34 | 93,52 | 95,21 | 93,25 |
| 9 | 106,4 | 112,28 | 115,77 | 35 | 92,69 | 94,32 | 92,84 |
| 10 | 116,77 | 115,27 | 119,66 | 36 | 91,23 | 93,69 | 91,84 |
| 11 | 120,66 | 118,16 | 120,15 | 37 | 90,52 | 92,54 | 90,74 |
| 12 | 123,65 | 120,66 | 122,05 | 38 | 89,56 | 90,45 | 89,54 |
| 13 | 125,65 | 125,05 | 123,05 | 39 | 88,78 | 88 | 88,32 |
| 14 | 125,54 | 125,05 | 125,04 | 40 | 87,23 | 87,25 | 87,3 |
| 15 | 126,54 | 126,05 | 125,04 | 41 | 86,88 | 86,54 | 85,24 |
| 16 | 127,55 | 126,54 | 125,04 | 42 | 85,23 | 84,23 | 83,64 |
| 17 | 126,54 | 127,54 | 125,04 | 43 | 84,96 | 82,36 | 80,64 |
| 18 | 126,54 | 127,15 | 125,54 | 44 | 83,65 | 81,23 | 79,54 |
| 19 | 126,55 | 126,15 | 125,54 | 45 | 82,32 | 80,96 | 78,62 |
| 20 | 126,54 | 125,05 | 125,04 | 46 | 80,69 | 79,45 | 77,64 |
| 21 | 125,04 | 125,05 | 126,55 | 47 | 79,68 | 78,47 | 76,21 |
| 22 | 125,04 | 125,05 | 126,55 | 48 | 78,52 | 77,23 | 72,64 |
| 23 | 125,04 | 125,05 | 125,04 | 49 | 77,56 | 76,34 | 71,23 |
| 24 | 121,15 | 121,65 | 119,66 | 50 | 76,95 | 75,24 | 70 |
| 25 | 117,17 | 119,16 | 112,28 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 3

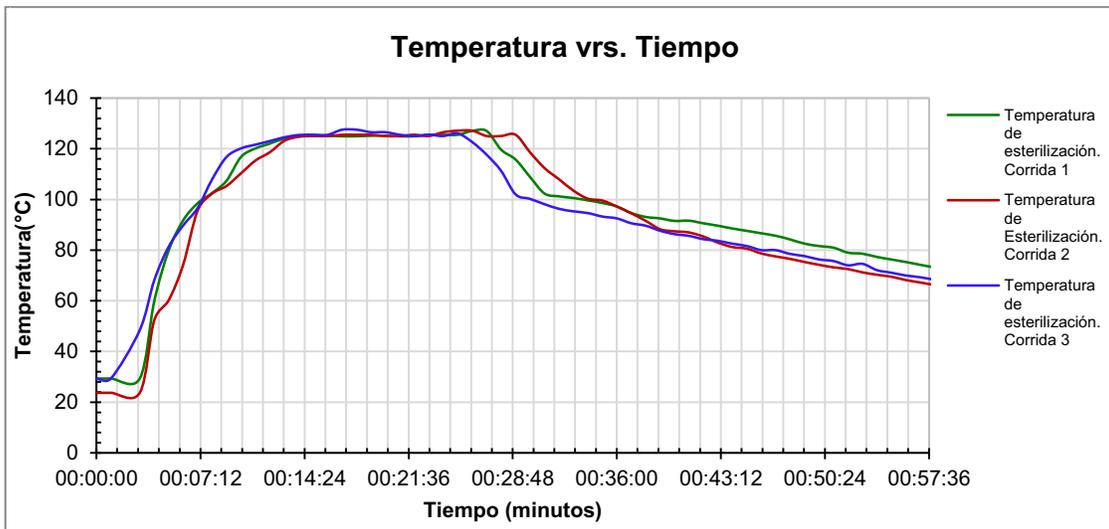
Tabla 10. **Datos de esterilización 125 °C durante 15 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 29,32 | 23,69 | 29,32 | 26 | 127,05 | 125,05 | 117,66 |
| 1 | 29,32 | 23,69 | 29,32 | 27 | 119,66 | 125,05 | 111,28 |
| 2 | 29,32 | 23,69 | 48,47 | 28 | 115,77 | 125,54 | 102,01 |
| 3 | 59,83 | 52,32 | 68,11 | 29 | 108,89 | 118,62 | 100,25 |
| 4 | 79,88 | 60,23 | 81,37 | 30 | 102,36 | 112,4 | 98,14 |
| 5 | 91,74 | 74,232 | 89,75 | 31 | 101,23 | 108 | 96,32 |
| 6 | 98,52 | 95,63 | 96,63 | 32 | 100,58 | 103,5 | 95,32 |
| 7 | 102,51 | 102,32 | 107,89 | 33 | 99,65 | 100,3 | 94,63 |
| 8 | 107,39 | 105,32 | 116,77 | 34 | 98,62 | 99,58 | 93,26 |
| 9 | 116,77 | 110,32 | 120,16 | 35 | 97,25 | 97,23 | 92,54 |
| 10 | 120,15 | 115,36 | 121,65 | 36 | 94,65 | 94,56 | 90,63 |
| 11 | 122,05 | 118,65 | 123,05 | 37 | 93,12 | 91,58 | 89,65 |
| 12 | 124,05 | 123,15 | 124,55 | 38 | 92,52 | 88,25 | 87,65 |
| 13 | 125,05 | 124,75 | 125,45 | 39 | 91,54 | 87,45 | 86,32 |
| 14 | 125,15 | 125,05 | 125,55 | 40 | 91,63 | 86,98 | 85,63 |
| 15 | 125,15 | 125,05 | 125,55 | 41 | 90,59 | 85,36 | 84,32 |
| 16 | 124,95 | 125,54 | 127,54 | 42 | 89,65 | 82,97 | 83,69 |
| 17 | 124,95 | 125,54 | 127,54 | 43 | 88,54 | 81,23 | 82,54 |
| 18 | 125,15 | 125,54 | 126,55 | 44 | 87,62 | 80,59 | 81,63 |
| 19 | 125,15 | 125,05 | 126,55 | 45 | 86,65 | 78,69 | 80 |
| 20 | 124,95 | 125,05 | 125,54 | 46 | 85,69 | 77,52 | 79,99 |
| 21 | 124,95 | 125,54 | 125,05 | 47 | 84,21 | 76,54 | 78,5 |
| 22 | 125,54 | 125,05 | 125,54 | 48 | 82,56 | 75,32 | 77,64 |
| 23 | 125,54 | 126,54 | 125,05 | 49 | 81,62 | 74,21 | 76,32 |
| 24 | 125,54 | 127,15 | 126,05 | 50 | 80,96 | 73,21 | 75,69 |
| 25 | 127,05 | 127,15 | 122,65 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

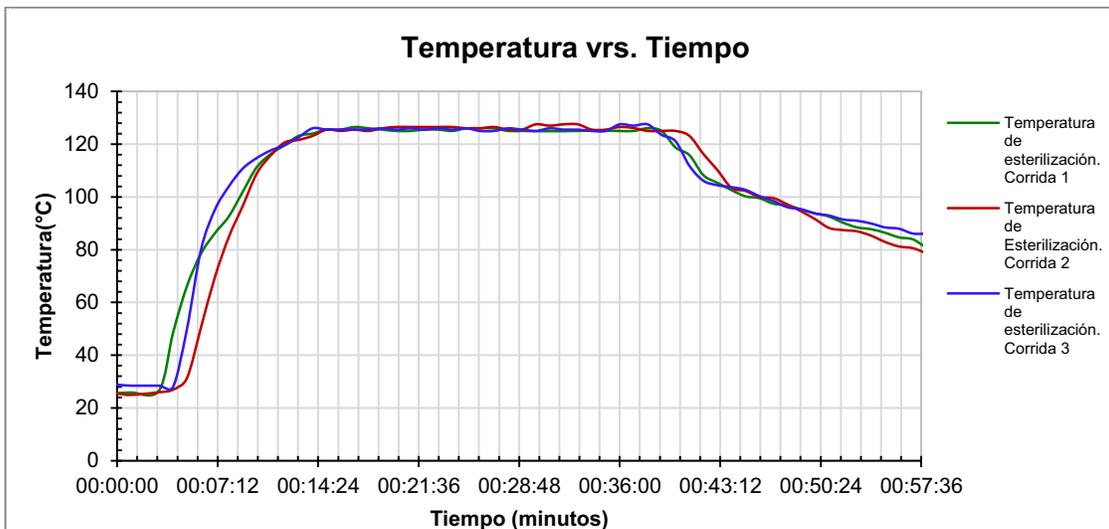
Continuación de Apéndice 3

Gráfica 11. Esterilización a 125 °C durante 20 minutos



Fuente: elaboración propia.

Gráfica 12. Esterilización a 125 °C durante 25 minutos



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 3

Tabla 11. **Datos de esterilización a 125 °C durante 20 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 23,94 | 28,09 | 29,82 | 26 | 126,04 | 127,6 | 125,04 |
| 1 | 24,44 | 28,59 | 29,82 | 27 | 126,54 | 127,6 | 125,04 |
| 2 | 23,94 | 29,09 | 29,82 | 28 | 126,54 | 126,1 | 126,54 |
| 3 | 34,31 | 29,09 | 51,46 | 29 | 127 | 127,1 | 127,54 |
| 4 | 64,22 | 42,98 | 76,49 | 30 | 127,07 | 127,6 | 127,54 |
| 5 | 85,36 | 66,24 | 90,24 | 31 | 126,54 | 127,1 | 127,05 |
| 6 | 98,12 | 87,57 | 100,51 | 32 | 126,04 | 127,1 | 127,55 |
| 7 | 104,5 | 108,31 | 106,9 | 33 | 120,16 | 127,1 | 122,15 |
| 8 | 110,39 | 109,76 | 109,89 | 34 | 110,39 | 127,2 | 120,66 |
| 9 | 115,77 | 110,31 | 115,27 | 35 | 98,25 | 115,26 | 113,26 |
| 10 | 119,66 | 111,83 | 120,66 | 36 | 96,18 | 109,32 | 108,12 |
| 11 | 124,05 | 115,76 | 122,65 | 37 | 95,49 | 104,89 | 106,32 |
| 12 | 125,04 | 120,72 | 124,54 | 38 | 94,23 | 102,37 | 105,89 |
| 13 | 125,05 | 122,61 | 125,04 | 39 | 92,85 | 99,96 | 102,58 |
| 14 | 125,54 | 120,72 | 125,54 | 40 | 91,63 | 99,45 | 100,96 |
| 15 | 127,04 | 125,65 | 124,94 | 41 | 90,59 | 97,94 | 98,12 |
| 16 | 126,54 | 125,66 | 125,05 | 42 | 89,22 | 97,94 | 97,87 |
| 17 | 125,05 | 126,15 | 126,55 | 43 | 88,83 | 97,94 | 96,32 |
| 18 | 126,04 | 126,67 | 126,05 | 44 | 87,58 | 97,44 | 95,32 |
| 19 | 125,04 | 126,1 | 126,54 | 45 | 86,32 | 96,43 | 94,25 |
| 20 | 125,54 | 126,61 | 126,05 | 46 | 84,32 | 96,94 | 93,89 |
| 21 | 125,54 | 126,61 | 127,15 | 47 | 83,62 | 96,43 | 92,87 |
| 22 | 126,04 | 126,61 | 127,15 | 48 | 82,69 | 95,43 | 94,56 |
| 23 | 125,54 | 126,71 | 126,57 | 49 | 81,63 | 88,48 | 92,58 |
| 24 | 125,54 | 127,6 | 125,04 | 50 | 80,23 | 88,08 | 90,54 |
| 25 | 125,54 | 127,6 | 125,54 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 3

Tabla 12. **Datos de esterilización 125 °C durante 25 minutos**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Corrida 2 (°C) | Corrida 3 (°C) |
|------------------|----------------|----------------|----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|
| 0 | 25,64 | 25,44 | 28,83 | 26 | 126,04 | 126,54 | 125,04 |
| 1 | 25,84 | 24,94 | 28,43 | 27 | 125,04 | 125,54 | 126,04 |
| 2 | 26,59 | 25,94 | 28,43 | 28 | 125,04 | 125,54 | 125,54 |
| 3 | 48,47 | 26,93 | 27,93 | 29 | 124,95 | 127,54 | 125,04 |
| 4 | 66,22 | 31,32 | 49,96 | 30 | 124,95 | 127,05 | 126,04 |
| 5 | 78,48 | 50,46 | 79,88 | 31 | 124,95 | 127,55 | 125,54 |
| 6 | 86,26 | 69,61 | 95,13 | 32 | 125,05 | 127,54 | 125,54 |
| 7 | 92,64 | 84,86 | 104 | 33 | 125,16 | 125,54 | 125,04 |
| 8 | 102,01 | 96,63 | 110,78 | 34 | 125,15 | 125,54 | 125,04 |
| 9 | 111,28 | 108,89 | 114,77 | 35 | 125,04 | 126,54 | 127,55 |
| 10 | 116,27 | 115,77 | 117,66 | 36 | 125,04 | 126,15 | 127,05 |
| 11 | 119,66 | 120,66 | 119,66 | 37 | 126,04 | 125,04 | 127,54 |
| 12 | 123,15 | 121,65 | 122,65 | 38 | 125,04 | 125,04 | 123,55 |
| 13 | 124,05 | 123,15 | 126,04 | 39 | 118,77 | 125,04 | 121,15 |
| 14 | 125,54 | 125,54 | 125,54 | 40 | 115,85 | 123,15 | 111,78 |
| 15 | 125,54 | 125,05 | 125,54 | 41 | 108,24 | 116,27 | 106,13 |
| 16 | 126,54 | 125,54 | 125,54 | 42 | 105,4 | 110,23 | 104,48 |
| 17 | 126,04 | 125,04 | 125,54 | 43 | 102,63 | 103,51 | 103,72 |
| 18 | 125,54 | 126,05 | 126,04 | 44 | 100,25 | 102,32 | 102,72 |
| 19 | 125,04 | 126,55 | 125,54 | 45 | 99,56 | 100 | 100,34 |
| 20 | 125,04 | 126,55 | 126,04 | 46 | 97,48 | 99,58 | 98,48 |
| 21 | 125,54 | 126,54 | 125,54 | 47 | 96,85 | 97,23 | 96,13 |
| 22 | 125,54 | 126,54 | 126,04 | 48 | 95,25 | 94,56 | 95,34 |
| 23 | 125,04 | 126,54 | 125,54 | 49 | 93,78 | 91,58 | 93,72 |
| 24 | 126,04 | 126,05 | 126,04 | 50 | 92,58 | 88,25 | 92,95 |
| 25 | 126,04 | 126,05 | 125,04 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Apéndice 4. **Presión y temperatura de Esterilización sistema 1**

Tabla 13. **Esterilización a 115 °C con presiones de 12 a 13 psi**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Presión | | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Presión | |
|---------------------|-------------------|---------|-------|---------------------|-------------------|---------|----------|
| | | (Psi) | (Bar) | | | (Psi) | (Bar) |
| 0 | 22,94 | 0 | 0,000 | 26 | 115,27 | 12 | 0,828 |
| 1 | 31,05 | 1 | 0,069 | 27 | 115,77 | 12 | 0,828 |
| 2 | 48,97 | 1,5 | 0,103 | 28 | 117,16 | 13 | 0,897 |
| 3 | 70,1 | 2 | 0,138 | 29 | 117,16 | 13 | 0,897 |
| 4 | 84,86 | 3 | 0,207 | 30 | 117,16 | 13 | 0,896552 |
| 5 | 94,13 | 4 | 0,276 | 31 | 117,16 | 13 | 0,896552 |
| 6 | 101,51 | 4,5 | 0,310 | 32 | 117,66 | 13 | 0,896552 |
| 7 | 106,78 | 6 | 0,414 | 33 | 116,55 | 12,5 | 0,862069 |
| 8 | 108,78 | 7 | 0,483 | 34 | 117,17 | 13 | 0,896552 |
| 9 | 110,78 | 9 | 0,621 | 35 | 116,77 | 12,5 | 0,862069 |
| 10 | 112,77 | 10,5 | 0,724 | 36 | 114,77 | 11,5 | 0,793103 |
| 11 | 114,27 | 11,5 | 0,793 | 37 | 111,28 | 10,5 | 0,724138 |
| 12 | 114,16 | 11,5 | 0,793 | 38 | 106,23 | 9 | 0,62069 |
| 13 | 114,16 | 11,5 | 0,793 | 39 | 104 | 8 | 0,551724 |
| 14 | 115,27 | 12 | 0,828 | 40 | 103,56 | 4 | 0,285714 |
| 15 | 117,16 | 13 | 0,897 | 41 | 101,58 | 3 | 0,214286 |
| 16 | 117,16 | 13 | 0,897 | 42 | 100,96 | 3 | 0,214286 |
| 17 | 116,77 | 12,5 | 0,862 | 43 | 99,23 | 2,5 | 0,178571 |
| 18 | 116,77 | 12,5 | 0,862 | 44 | 98,78 | 2 | 0,142857 |
| 19 | 117,17 | 13 | 0,897 | 45 | 96,54 | 2 | 0,142857 |
| 20 | 117,17 | 13 | 0,897 | 46 | 92,58 | 2 | 0,142857 |
| 21 | 115,77 | 12 | 0,828 | 47 | 91,74 | 2 | 0,142857 |
| 22 | 115,77 | 12 | 0,828 | 48 | 90,25 | 2 | 0,142857 |
| 23 | 115,77 | 12 | 0,828 | 49 | 89,36 | 2 | 0,142857 |
| 24 | 116,27 | 12,5 | 0,862 | 50 | 87,52 | 2 | 0,142857 |
| 25 | 115,77 | 12 | 0,828 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Apéndice 5. **Presión y temperatura de Esterilización sistema 2**

Tabla 14. **Esterilización a 121 °C con presiones de 18,5 a 19 psi**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Presión | | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Presión | |
|---------------------|-------------------|---------|-------|---------------------|-------------------|---------|-------|
| | | (Psi) | (Bar) | | | (Psi) | (Bar) |
| 0 | 22,94 | 0 | 0,000 | 26 | 121,65 | 18,5 | 1,276 |
| 1 | 32,81 | 0,5 | 0,034 | 27 | 121,15 | 18,5 | 1,276 |
| 2 | 61,23 | 0,5 | 0,034 | 28 | 121,65 | 18,5 | 1,276 |
| 3 | 81,87 | 1,5 | 0,103 | 29 | 122,65 | 19 | 1,310 |
| 4 | 94,13 | 2 | 0,138 | 30 | 121,16 | 18,5 | 1,276 |
| 5 | 99,52 | 3,5 | 0,241 | 31 | 121,66 | 18,5 | 1,276 |
| 6 | 105,4 | 4 | 0,276 | 32 | 123,65 | 19 | 1,310 |
| 7 | 110,78 | 7 | 0,483 | 33 | 122,65 | 19 | 1,310 |
| 8 | 113,28 | 10,5 | 0,724 | 34 | 118,11 | 15 | 1,034 |
| 9 | 114,77 | 12 | 0,828 | 35 | 112,32 | 12 | 0,828 |
| 10 | 117,17 | 15,5 | 1,069 | 36 | 104 | 8,5 | 0,586 |
| 11 | 118,27 | 17 | 1,172 | 37 | 99,74 | 2,5 | 0,172 |
| 12 | 119,66 | 18 | 1,241 | 38 | 96,23 | 2 | 0,138 |
| 13 | 121,66 | 18,5 | 1,276 | 39 | 94,9 | 2 | 0,138 |
| 14 | 122,15 | 19 | 1,310 | 40 | 92,56 | 2 | 0,143 |
| 15 | 121,15 | 18,5 | 1,276 | 41 | 91,32 | 2 | 0,143 |
| 16 | 121,66 | 18,5 | 1,276 | 42 | 90,23 | 2 | 0,143 |
| 17 | 121,16 | 18,5 | 1,276 | 43 | 85,85 | 1 | 0,071 |
| 18 | 122,15 | 19 | 1,310 | 44 | 84,32 | 1 | 0,071 |
| 19 | 122,15 | 19 | 1,310 | 45 | 82,69 | 1 | 0,071 |
| 20 | 123,05 | 19 | 1,310 | 46 | 80,54 | 1 | 0,071 |
| 21 | 123,04 | 19 | 1,310 | 47 | 79,32 | 0,5 | 0,036 |
| 22 | 122,65 | 19 | 1,310 | 48 | 78,69 | 0,5 | 0,036 |
| 23 | 122,15 | 19 | 1,310 | 49 | 77,58 | 0,5 | 0,036 |
| 24 | 122,65 | 19 | 1,310 | 50 | 75,32 | 0,5 | 0,036 |
| 25 | 122,65 | 19 | 1,310 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Apéndice 6. **Presión y temperatura de Esterilización sistema 3**

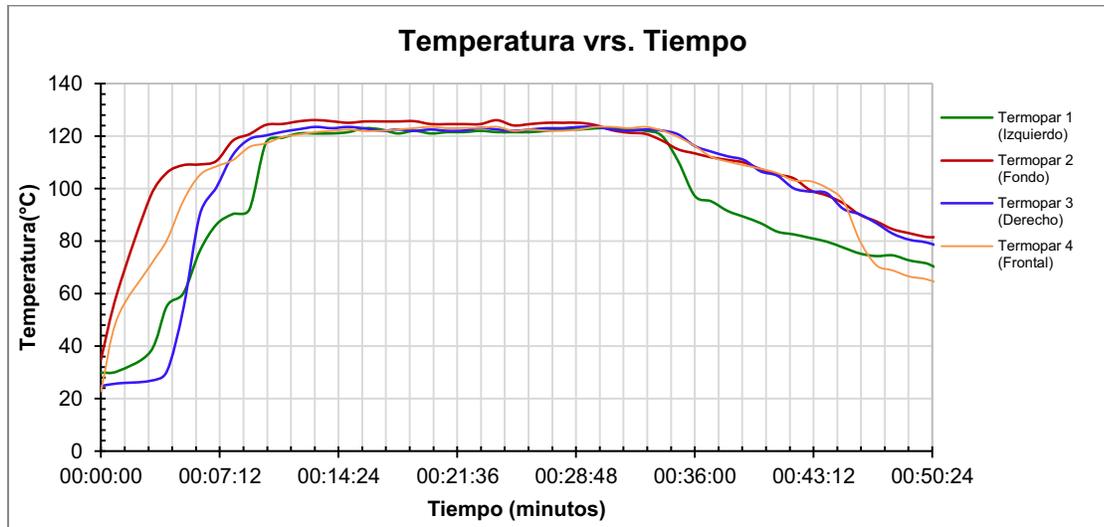
Tabla 15. **Esterilización a 125 °C con presiones de 21 a 22 psi**

| Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Presión | | Tiempo (Minutos) | Corrida 1 (°C) | Presión | |
|---------------------|-------------------|---------|-------|---------------------|-------------------|---------|-------|
| | | (Psi) | (Bar) | | | (Psi) | (Bar) |
| 0 | 23,94 | 0,1 | 0,007 | 26 | 126,04 | 21 | 1,448 |
| 1 | 24,44 | 0,1 | 0,007 | 27 | 126,54 | 21 | 1,448 |
| 2 | 23,94 | 0,1 | 0,007 | 28 | 126,54 | 21 | 1,448 |
| 3 | 34,31 | 0,5 | 0,034 | 29 | 127 | 23 | 1,586 |
| 4 | 64,22 | 0,5 | 0,034 | 30 | 127,07 | 23 | 1,586 |
| 5 | 85,36 | 2 | 0,138 | 31 | 126,54 | 22 | 1,517 |
| 6 | 98,12 | 5 | 0,345 | 32 | 126,04 | 22 | 1,517 |
| 7 | 104,5 | 7 | 0,483 | 33 | 120,16 | 20 | 1,379 |
| 8 | 110,39 | 9,5 | 0,655 | 34 | 110,39 | 10 | 0,690 |
| 9 | 115,77 | 13 | 0,897 | 35 | 98,25 | 7 | 0,483 |
| 10 | 119,66 | 16 | 1,103 | 36 | 96,18 | 7 | 0,483 |
| 11 | 124,05 | 20 | 1,379 | 37 | 95,49 | 7 | 0,483 |
| 12 | 125,04 | 21 | 1,448 | 38 | 94,23 | 4 | 0,276 |
| 13 | 125,05 | 21 | 1,448 | 39 | 92,85 | 4 | 0,276 |
| 14 | 125,54 | 21 | 1,448 | 40 | 91,63 | 4 | 0,286 |
| 15 | 127,04 | 23 | 1,586 | 41 | 90,59 | 4 | 0,286 |
| 16 | 126,54 | 22 | 1,517 | 42 | 89,22 | 1 | 0,071 |
| 17 | 125,05 | 21 | 1,448 | 43 | 88,83 | 1 | 0,071 |
| 18 | 126,04 | 22 | 1,517 | 44 | 87,58 | 1 | 0,071 |
| 19 | 125,04 | 21 | 1,448 | 45 | 86,32 | 1 | 0,071 |
| 20 | 125,54 | 21 | 1,448 | 46 | 84,32 | 1 | 0,071 |
| 21 | 125,54 | 21 | 1,448 | 47 | 83,62 | 1 | 0,071 |
| 22 | 126,04 | 22 | 1,517 | 48 | 82,69 | 1 | 0,071 |
| 23 | 125,54 | 21 | 1,448 | 49 | 81,63 | 1 | 0,071 |
| 24 | 125,54 | 22 | 1,517 | 50 | 80,23 | 1 | 0,071 |
| 25 | 125,54 | 22 | 1,517 | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

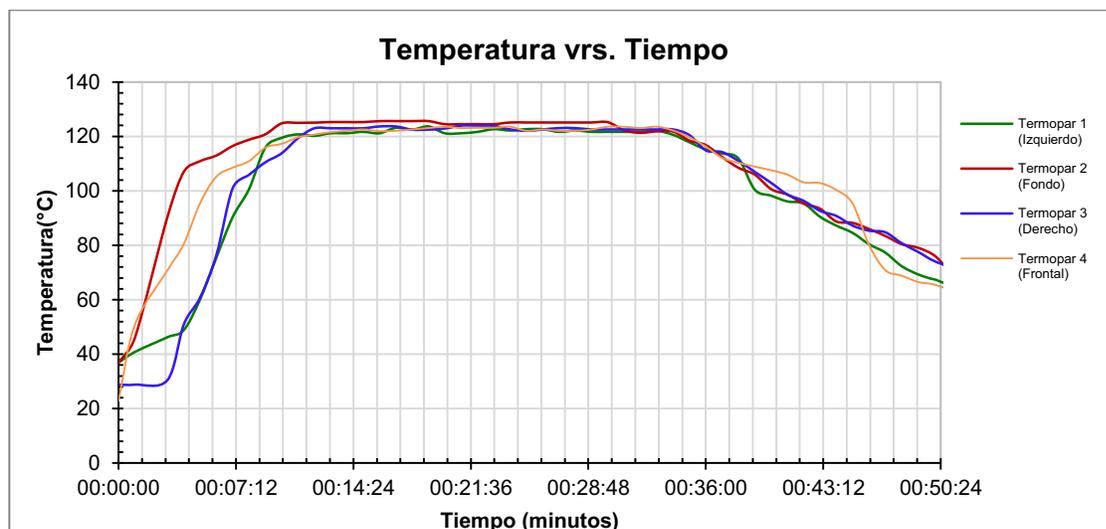
Apéndice 7. **Determinación del punto frío del autoclave con cámara vacía**

Gráfica 13. **Esterilización para 121 °C durante 20 minutos, corrida 1**



Fuente: elaboración propia.

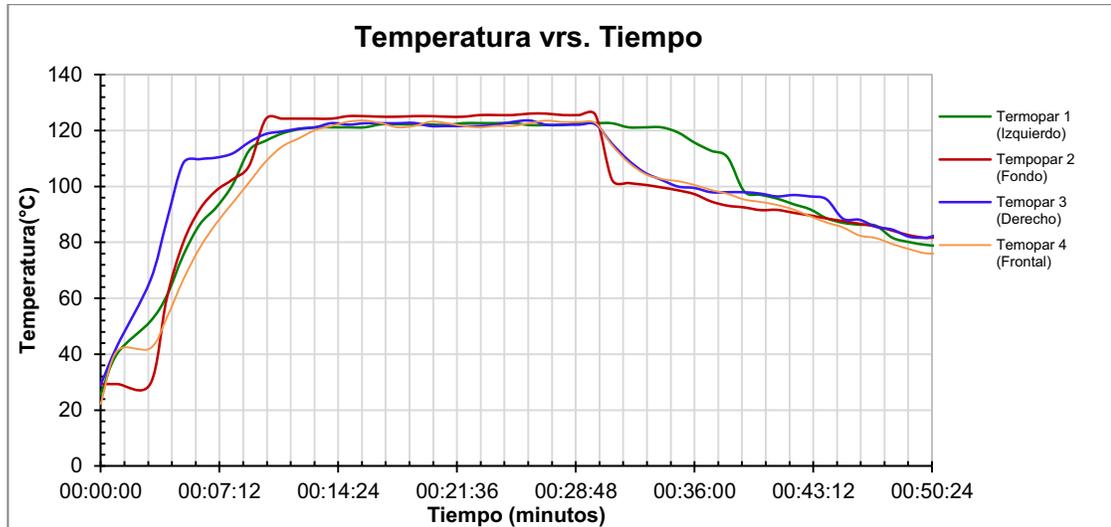
Gráfica 14. **Esterilización para 121 °C durante 20 minutos, corrida 2**



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 7

Gráfica 14. Esterilización para 121 °C durante 20 minutos, corrida 3



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 7

Tabla 16. **Determinación del punto frío con cámara vacía corrida 1**

| Corrida 1 | | | | | | | | | |
|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente | | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente |
| Tiempo (Min) | Termopar 1 (°C) | Termopar 2 (°C) | Termopar 3 (°C) | Termopar 4 (°C) | Tiempo (Min) | Termopar 1 (°C) | Termopar 2 (°C) | Termopar 3 (°C) | Termopar 4 (°C) |
| 0 | 29,94 | 35,09 | 24,82 | 22,82 | 26 | 122,04 | 124,1 | 123,04 | 122,04 |
| 1 | 30,44 | 60,59 | 25,82 | 50,82 | 27 | 122,54 | 124,1 | 123,04 | 122,04 |
| 2 | 37,94 | 97,09 | 26,82 | 70,82 | 28 | 122,54 | 124,1 | 123,54 | 122,54 |
| 3 | 55,31 | 106,09 | 30,46 | 80,46 | 29 | 123 | 124,2 | 123,54 | 123,54 |
| 4 | 60,22 | 108,98 | 54,49 | 95,49 | 30 | 123,07 | 124,2 | 122,54 | 123,54 |
| 5 | 76,36 | 109,24 | 90,24 | 105,24 | 31 | 122,54 | 124,2 | 122,05 | 123,05 |
| 6 | 86,36 | 110,57 | 100,51 | 108,51 | 32 | 122,04 | 120,89 | 122,55 | 123,55 |
| 7 | 90,36 | 118,31 | 112,9 | 110,9 | 33 | 120,16 | 118,37 | 122,15 | 122,15 |
| 8 | 92,12 | 120,76 | 118,89 | 115,89 | 34 | 110,39 | 114,96 | 120,66 | 119,66 |
| 9 | 117,5 | 120,98 | 120,27 | 117,27 | 35 | 97,25 | 113,45 | 116,26 | 116,26 |
| 10 | 119,39 | 124,31 | 120,66 | 119,66 | 36 | 95,18 | 111,94 | 114,12 | 112,12 |
| 11 | 121,05 | 124,31 | 122,65 | 120,65 | 37 | 91,49 | 110,94 | 112,32 | 110,32 |
| 12 | 122,04 | 124,15 | 123,54 | 120,74 | 38 | 89,23 | 109,94 | 110,89 | 108,89 |
| 13 | 122,04 | 124,15 | 123,04 | 121,54 | 39 | 86,85 | 107,44 | 106,58 | 107,58 |
| 14 | 122,04 | 124,15 | 123,54 | 122,54 | 40 | 83,63 | 105,43 | 104,96 | 105,96 |
| 15 | 123,04 | 124,15 | 122,94 | 121,94 | 41 | 82,59 | 103,94 | 100,12 | 103,12 |
| 16 | 122,54 | 124,15 | 122,05 | 122,05 | 42 | 81,22 | 99,43 | 98,87 | 102,87 |
| 17 | 122,05 | 124,15 | 122,55 | 122,55 | 43 | 79,83 | 97,43 | 98,32 | 100,32 |
| 18 | 122,04 | 124,05 | 122,05 | 123,05 | 44 | 77,58 | 94,48 | 92,32 | 95,32 |
| 19 | 122,04 | 124,05 | 122,54 | 123,54 | 45 | 75,32 | 90,08 | 90,25 | 80,25 |
| 20 | 122,04 | 124,05 | 122,05 | 123,05 | 46 | 74,32 | 87,56 | 86,89 | 70,89 |
| 21 | 122,04 | 124,05 | 122,15 | 123,15 | 47 | 74,62 | 84,56 | 82,87 | 68,87 |
| 22 | 122,04 | 124,05 | 123,15 | 123,15 | 48 | 72,69 | 83,04 | 80,56 | 66,56 |
| 23 | 122,54 | 124,1 | 122,57 | 123,57 | 49 | 71,63 | 81,64 | 79,58 | 65,58 |
| 24 | 122,54 | 124,1 | 122,04 | 121,04 | 50 | 70,23 | 80,63 | 77,54 | 63,54 |
| 25 | 122,54 | 124,1 | 122,54 | 121,54 | | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 7

Tabla 17. **Determinación del punto frío con cámara vacía corrida 2**

| Corrida 2 | | | | | | | | | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|--------|------------|------------|------------|------------|
| | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente | | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente |
| Tiempo | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 | Tiempo | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 |
| (Min) | (°C) | (°C) | (°C) | (°C) | (Min) | (°C) | (°C) | (°C) | (°C) |
| 0 | 36,94 | 36,98 | 28,82 | 22,82 | 26 | 122,65 | 124,1 | 123,04 | 122,65 |
| 1 | 40,81 | 45,95 | 28,82 | 45,89 | 27 | 122,16 | 124,1 | 123,04 | 122,15 |
| 2 | 46,23 | 90,45 | 30,49 | 50,78 | 28 | 121,65 | 124,1 | 122,54 | 122,65 |
| 3 | 48,87 | 106,98 | 50,89 | 75,65 | 29 | 121,66 | 124,02 | 122,54 | 122,65 |
| 4 | 60,13 | 110,89 | 60,79 | 80,49 | 30 | 121,66 | 124,02 | 122,54 | 121,16 |
| 5 | 75,52 | 112,98 | 76,45 | 87,69 | 31 | 121,66 | 124,02 | 122,54 | 121,66 |
| 6 | 90,4 | 116,48 | 100,98 | 94,87 | 32 | 122,04 | 124,02 | 122,54 | 123,65 |
| 7 | 100,65 | 118,78 | 105,89 | 100,87 | 33 | 120,56 | 122,78 | 122,54 | 122,65 |
| 8 | 115,89 | 120,76 | 110,49 | 112,98 | 34 | 117,84 | 118,45 | 120,45 | 121,45 |
| 9 | 119,45 | 121,78 | 113,78 | 115,23 | 35 | 115,21 | 116,79 | 114,87 | 120,45 |
| 10 | 120,74 | 124,25 | 119,32 | 117,84 | 36 | 113,74 | 112,42 | 114,23 | 119,65 |
| 11 | 121,21 | 124,25 | 122,97 | 119,23 | 37 | 111,89 | 108,47 | 110,98 | 117,89 |
| 12 | 121,16 | 124,25 | 122,98 | 120,54 | 38 | 100,45 | 105,98 | 106,98 | 115,45 |
| 13 | 121,17 | 124,25 | 122,98 | 121,66 | 39 | 98,23 | 100,65 | 102,96 | 114 |
| 14 | 122,66 | 124,25 | 122,98 | 121,15 | 40 | 96,12 | 98,62 | 98,65 | 113,98 |
| 15 | 122,15 | 124,01 | 123,05 | 121,15 | 41 | 95,36 | 95,32 | 96,32 | 112,78 |
| 16 | 122,15 | 124,01 | 123,05 | 121,66 | 42 | 90,48 | 93,45 | 92,65 | 110,98 |
| 17 | 122,45 | 124,01 | 122,48 | 121,16 | 43 | 87,23 | 88,75 | 90,78 | 109,78 |
| 18 | 122,66 | 124,01 | 122,48 | 122,15 | 44 | 84,56 | 88,23 | 87,23 | 102,46 |
| 19 | 122,15 | 124,18 | 122,89 | 122,15 | 45 | 80,41 | 85,98 | 85,36 | 90,32 |
| 20 | 122,15 | 124,18 | 123,06 | 123,05 | 46 | 77,32 | 83,45 | 84,79 | 85,65 |
| 21 | 122,65 | 124,18 | 123,06 | 123,04 | 47 | 72,36 | 80,45 | 80,79 | 80,23 |
| 22 | 122,65 | 124,18 | 123,06 | 122,65 | 48 | 69,36 | 79,12 | 77,63 | 76,69 |
| 23 | 122,15 | 124,1 | 122,57 | 122,15 | 49 | 67,49 | 76,32 | 74,23 | 72,5 |
| 24 | 122,65 | 124,1 | 122,04 | 122,65 | 50 | 66,98 | 70,98 | 72,48 | 68,25 |
| 25 | 122,65 | 124,1 | 122,54 | 122,65 | | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 7

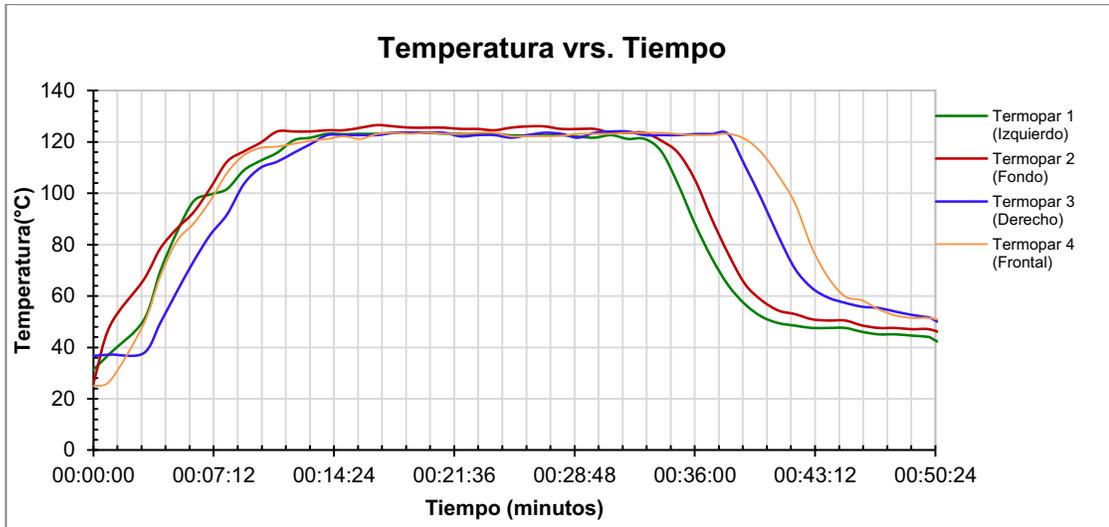
Tabla 18. **Determinación del punto frío con cámara vacía corrida 3**

| Corrida 3 | | | | | | | | | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|--------|------------|------------|------------|------------|
| | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente | | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente |
| Tiempo | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 | Tiempo | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 |
| (Min) | (°C) | (°C) | (°C) | (°C) | (Min) | (°C) | (°C) | (°C) | (°C) |
| 0 | 25,63 | 29,32 | 29,09 | 22,23 | 26 | 121,95 | 124,05 | 122,1 | 123,55 |
| 1 | 40,23 | 29,32 | 42,98 | 41,19 | 27 | 121,95 | 124,05 | 122,1 | 123,05 |
| 2 | 51,69 | 29,32 | 66,24 | 42,09 | 28 | 122,66 | 124,05 | 122,1 | 123,05 |
| 3 | 60,84 | 59,83 | 87,57 | 52,95 | 29 | 122,66 | 124,05 | 122,2 | 122,65 |
| 4 | 75,32 | 79,88 | 108,31 | 66,61 | 30 | 122,6 | 110,36 | 115,26 | 114,77 |
| 5 | 86,36 | 91,74 | 109,76 | 77,98 | 31 | 121,15 | 101,23 | 109,32 | 108,62 |
| 6 | 92,47 | 98,52 | 110,31 | 86,76 | 32 | 121,15 | 100,58 | 104,89 | 104,5 |
| 7 | 100,64 | 102,51 | 111,83 | 94,13 | 33 | 121,15 | 99,65 | 102,37 | 102,69 |
| 8 | 112,87 | 107,39 | 115,83 | 101,51 | 34 | 119,32 | 98,62 | 99,96 | 101,89 |
| 9 | 116,32 | 124,05 | 118,76 | 108,89 | 35 | 115,69 | 97,25 | 99,45 | 100,54 |
| 10 | 118,96 | 124,05 | 119,65 | 114,27 | 36 | 112,78 | 94,65 | 97,94 | 98,74 |
| 11 | 120,45 | 124,05 | 120,66 | 117,17 | 37 | 110,46 | 93,12 | 97,94 | 97,38 |
| 12 | 121,15 | 124,05 | 121,15 | 120,16 | 38 | 98,32 | 92,52 | 97,94 | 95,34 |
| 13 | 121,15 | 124,05 | 122,67 | 121,65 | 39 | 97 | 91,54 | 97,44 | 94,46 |
| 14 | 121,15 | 124,54 | 122,1 | 123,15 | 40 | 95,69 | 91,63 | 96,43 | 93,38 |
| 15 | 121,15 | 124,54 | 122,61 | 123,55 | 41 | 93,65 | 90,59 | 96,94 | 91,74 |
| 16 | 122,23 | 124,54 | 122,61 | 122,65 | 42 | 91,84 | 89,65 | 96,43 | 89,38 |
| 17 | 122,23 | 124,54 | 122,61 | 121,16 | 43 | 88,65 | 88,54 | 95,43 | 87,11 |
| 18 | 122,15 | 124,54 | 122,71 | 121,65 | 44 | 87 | 87,62 | 88,48 | 85,34 |
| 19 | 122,15 | 124,15 | 121,6 | 123,15 | 45 | 86,32 | 86,65 | 88,08 | 82,46 |
| 20 | 122 | 124,15 | 121,6 | 122,65 | 46 | 85,96 | 85,69 | 85,56 | 81,52 |
| 21 | 122,65 | 124,15 | 121,6 | 121,65 | 47 | 81,64 | 84,21 | 84,56 | 79,38 |
| 22 | 122,65 | 124,15 | 121,6 | 121,15 | 48 | 80,12 | 82,56 | 82,04 | 77,61 |
| 23 | 122,65 | 124,15 | 122,1 | 123,66 | 49 | 79,12 | 81,62 | 81,64 | 76,1 |
| 24 | 122,65 | 124,15 | 123,1 | 123,66 | 50 | 78,68 | 80,96 | 82,04 | 76,1 |
| 25 | 121,95 | 124,05 | 123,6 | 122,65 | | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

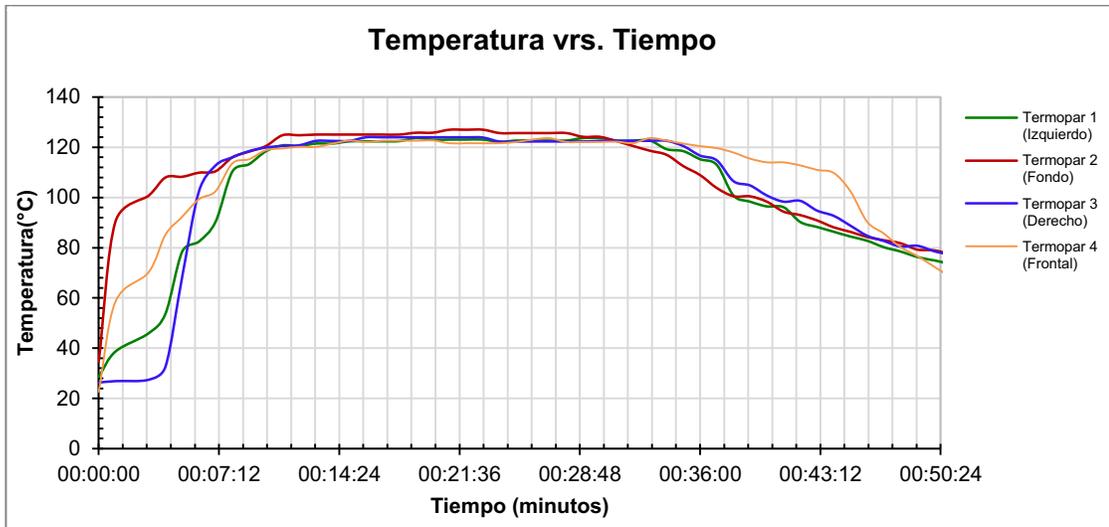
Apéndice 8. **Determinación del punto frío del autoclave con cámara cargada**

Gráfica 15. **Esterilización para 121 °C durante 20 minutos, corrida 1**



Fuente: elaboración propia.

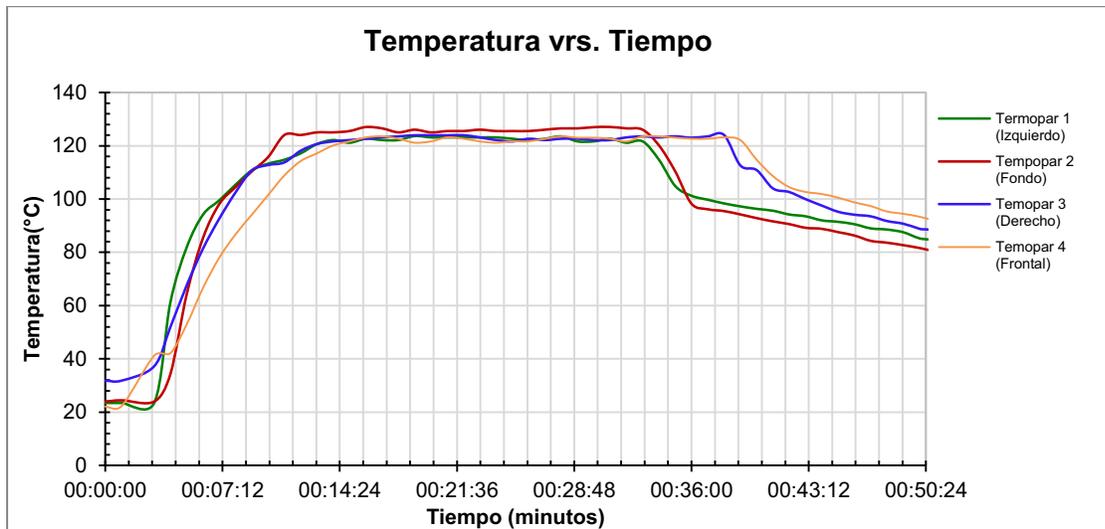
Gráfica 16. **Esterilización para 121 °C durante 20 minutos, corrida 2**



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 8

Gráfica 17. Esterilización para 121 °C durante 20 minutos, corrida 3



Fuente: elaboración propia.

Continuación de Apéndice 8

Tabla 18. **Determinación del punto frío cámara cargada corrida 1**

| Corrida 1 | | | | | | | | | |
|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente | | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente |
| Tiempo (Min) | Termopar 1 (°C) | Termopar 2 (°C) | Termopar 3 (°C) | Termopar 4 (°C) | Tiempo (Min) | Termopar 1 (°C) | Termopar 2 (°C) | Termopar 3 (°C) | Termopar 4 (°C) |
| 0 | 31,32 | 25,93 | 36,69 | 24,94 | 26 | 122,55 | 124,54 | 123,55 | 122,25 |
| 1 | 37,7 | 48,47 | 37,2 | 26,93 | 27 | 122,65 | 124,54 | 123,15 | 122,36 |
| 2 | 50,46 | 66,22 | 37,7 | 48,97 | 28 | 122,05 | 124,54 | 121,65 | 123,15 |
| 3 | 69,61 | 78,48 | 49,47 | 67,61 | 29 | 121,65 | 124,54 | 123,55 | 123,15 |
| 4 | 84,86 | 86,26 | 61,73 | 81,37 | 30 | 122,65 | 123,55 | 122,05 | 123,15 |
| 5 | 96,93 | 92,64 | 73,49 | 88,25 | 31 | 121,15 | 123,55 | 122,05 | 122,55 |
| 6 | 99,52 | 102,01 | 83,86 | 97,12 | 32 | 121,15 | 123,55 | 122,65 | 122,55 |
| 7 | 101,65 | 112,28 | 91,74 | 107,89 | 33 | 121,15 | 120,45 | 122,65 | 122,55 |
| 8 | 108,89 | 116,27 | 103,51 | 114,77 | 34 | 103,51 | 115,77 | 122,65 | 122,05 |
| 9 | 112,65 | 119,66 | 109,89 | 117,66 | 35 | 88,25 | 105,4 | 110,78 | 122,65 |
| 10 | 115,77 | 124,05 | 112,28 | 118,16 | 36 | 74,99 | 90,24 | 97,62 | 121,15 |
| 11 | 120,66 | 124,05 | 115,77 | 119,26 | 37 | 64,22 | 76,49 | 83,37 | 115,77 |
| 12 | 121,65 | 124,05 | 122,16 | 120,45 | 38 | 56,84 | 64,72 | 70,6 | 106,9 |
| 13 | 123,15 | 124,54 | 122,65 | 121,15 | 39 | 51,96 | 58,34 | 63,22 | 96,13 |
| 14 | 123,15 | 124,54 | 122,65 | 121,15 | 40 | 49,47 | 54,35 | 59,34 | 78,98 |
| 15 | 123,15 | 124,54 | 122,65 | 122,15 | 41 | 48,47 | 52,95 | 57,34 | 67,11 |
| 16 | 123,15 | 124,54 | 122,65 | 123,15 | 42 | 47,57 | 50,96 | 55,85 | 59,83 |
| 17 | 123,55 | 124,04 | 123,55 | 123,55 | 43 | 47,57 | 50,46 | 55,35 | 58,34 |
| 18 | 123,55 | 124,04 | 123,55 | 123,15 | 44 | 47,57 | 50,46 | 53,95 | 54,85 |
| 19 | 123,55 | 124,04 | 123,55 | 123,55 | 45 | 46,08 | 48,57 | 52,65 | 52,46 |
| 20 | 123,15 | 124,04 | 123,55 | 123,15 | 46 | 45,08 | 47,57 | 51,69 | 51,46 |
| 21 | 123,15 | 124,04 | 122,15 | 123,15 | 47 | 45,08 | 47,57 | 50,85 | 51,46 |
| 22 | 123,15 | 124,04 | 122,65 | 123,55 | 48 | 44,58 | 47,07 | 49,25 | 50,23 |
| 23 | 123,15 | 124,54 | 122,65 | 123,55 | 49 | 44,08 | 47,07 | 47,26 | 49,56 |
| 24 | 122,54 | 124,54 | 121,65 | 122,25 | 50 | 43,08 | 45,08 | 46,98 | 48,23 |
| 25 | 122,54 | 124,54 | 122,65 | 122,25 | | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 8

Tabla 19. **Determinación del punto frío cámara cargada corrida 2**

| Corrida 2 | | | | | | | | | |
|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente | | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente |
| Tiempo (Min) | Termopar 1 (°C) | Termopar 2 (°C) | Termopar 3 (°C) | Termopar 4 (°C) | Tiempo (Min) | Termopar 1 (°C) | Termopar 2 (°C) | Termopar 3 (°C) | Termopar 4 (°C) |
| 0 | 28,62 | 34,65 | 26,32 | 22,65 | 26 | 122,66 | 124,15 | 122,3 | 123,6 |
| 1 | 38,65 | 90,32 | 26,89 | 58,45 | 27 | 122,66 | 124,15 | 122,3 | 122,1 |
| 2 | 45,98 | 100,78 | 27,45 | 70,32 | 28 | 123,65 | 124,15 | 122,3 | 122,1 |
| 3 | 53,78 | 107,98 | 32,69 | 85,23 | 29 | 123,65 | 124,15 | 122,54 | 122,1 |
| 4 | 78,45 | 108,25 | 68,45 | 92,32 | 30 | 122,66 | 124,15 | 122,54 | 122,2 |
| 5 | 82,45 | 109,87 | 102,45 | 99,32 | 31 | 122,66 | 120,48 | 122,56 | 121,66 |
| 6 | 90,4 | 110,45 | 112,78 | 102,54 | 32 | 122,66 | 118,62 | 122,56 | 123,65 |
| 7 | 110,32 | 115,98 | 115,98 | 113,56 | 33 | 119,23 | 116,98 | 122,56 | 122,65 |
| 8 | 113,25 | 118,26 | 118,45 | 115,23 | 34 | 118,45 | 112,48 | 120,48 | 121,45 |
| 9 | 118,36 | 120,45 | 119,87 | 118,79 | 35 | 115,24 | 108,92 | 116,69 | 120,45 |
| 10 | 120,74 | 124,05 | 120,52 | 119,54 | 36 | 112,98 | 103,78 | 114,78 | 119,65 |
| 11 | 120,48 | 124,05 | 120,78 | 120,15 | 37 | 100,78 | 100,49 | 106,48 | 117,89 |
| 12 | 121,48 | 124,05 | 122,52 | 120,15 | 38 | 98,32 | 100,45 | 104,78 | 115,45 |
| 13 | 121,48 | 124,05 | 122,52 | 121,45 | 39 | 96,45 | 98,32 | 100,78 | 114 |
| 14 | 122,36 | 124,05 | 122,52 | 121,45 | 40 | 96,12 | 94,36 | 98,32 | 113,98 |
| 15 | 122,36 | 124,58 | 123,28 | 121,45 | 41 | 90,23 | 92,98 | 98,65 | 112,78 |
| 16 | 122,36 | 124,58 | 123,28 | 122,61 | 42 | 88,26 | 90,87 | 94,78 | 110,98 |
| 17 | 122,45 | 124,58 | 123,28 | 122,61 | 43 | 86,36 | 88,12 | 92,69 | 109,78 |
| 18 | 123,66 | 124,58 | 123,28 | 122,61 | 44 | 84,45 | 86,32 | 88,78 | 102,46 |
| 19 | 123 | 124,58 | 123,28 | 122,71 | 45 | 82,78 | 84,26 | 84,78 | 90,32 |
| 20 | 123,05 | 124,58 | 123,16 | 122,6 | 46 | 80,21 | 82,98 | 82,69 | 85,65 |
| 21 | 123,05 | 124,58 | 123,16 | 122,6 | 47 | 78,49 | 81,78 | 80,45 | 80,23 |
| 22 | 123,05 | 124,58 | 123,16 | 122,6 | 48 | 76,32 | 79,26 | 80,78 | 76,69 |
| 23 | 122,15 | 124,15 | 122,26 | 122,6 | 49 | 74,98 | 78,96 | 78,63 | 72,5 |
| 24 | 122,66 | 124,15 | 122,26 | 122,1 | 50 | 74,23 | 77,12 | 76,98 | 68,25 |
| 25 | 122,66 | 124,15 | 122,3 | 123,1 | | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Continuación de Apéndice 8

Tabla 20. **Determinación del punto frío cámara cargada corrida 3**

| Corrida 3 | | | | | | | | | |
|-----------|------------|------------|------------|------------|--------|------------|------------|------------|------------|
| | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente | | Izquierdo | Fondo | Derecho | Frente |
| Tiempo | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 | Tiempo | Termopar 1 | Termopar 2 | Termopar 3 | Termopar 4 |
| (Min) | (°C) | (°C) | (°C) | (°C) | (Min) | (°C) | (°C) | (°C) | (°C) |
| 0 | 23,44 | 23,94 | 31,82 | 22,09 | 26 | 122,65 | 124,54 | 122,15 | 122,65 |
| 1 | 23,44 | 24,44 | 31,82 | 22,23 | 27 | 123,55 | 124,54 | 122,65 | 123,55 |
| 2 | 23,44 | 23,94 | 37,2 | 41,19 | 28 | 123,55 | 124,54 | 122,65 | 123,05 |
| 3 | 61,23 | 34,31 | 51,96 | 42,09 | 29 | 121,65 | 124,54 | 122,15 | 123,05 |
| 4 | 81,87 | 64,22 | 67,61 | 52,95 | 30 | 122,65 | 124,04 | 122,15 | 122,65 |
| 5 | 94,13 | 85,36 | 81,37 | 66,61 | 31 | 121,16 | 124,04 | 123,15 | 121,66 |
| 6 | 99,52 | 98,12 | 92,64 | 77,98 | 32 | 121,66 | 124,04 | 123,55 | 121,66 |
| 7 | 105,4 | 104,5 | 102,51 | 86,76 | 33 | 114,77 | 120,16 | 123,15 | 121,66 |
| 8 | 110,78 | 110,39 | 110,78 | 94,13 | 34 | 104,9 | 110,39 | 114,77 | 112,63 |
| 9 | 113,28 | 115,77 | 112,78 | 101,51 | 35 | 101,23 | 98,25 | 108,62 | 110,89 |
| 10 | 114,77 | 124,05 | 113,78 | 108,89 | 36 | 99,75 | 96,18 | 104,5 | 104 |
| 11 | 117,17 | 124,05 | 118,16 | 114,27 | 37 | 98,36 | 95,49 | 102,69 | 102,65 |
| 12 | 120,66 | 124,05 | 120,65 | 117,17 | 38 | 97,25 | 94,23 | 101,89 | 99,98 |
| 13 | 122,15 | 124,05 | 121,65 | 120,16 | 39 | 96,32 | 92,85 | 100,54 | 97,56 |
| 14 | 122,15 | 124,54 | 122,15 | 121,65 | 40 | 95,63 | 91,63 | 98,74 | 95,23 |
| 15 | 122,66 | 124,54 | 122,65 | 121,65 | 41 | 94,21 | 90,59 | 97,38 | 94,12 |
| 16 | 122,15 | 124,54 | 123,15 | 121,65 | 42 | 93,54 | 89,22 | 95,34 | 93,52 |
| 17 | 122,15 | 124,05 | 123,55 | 122,65 | 43 | 92 | 88,83 | 94,46 | 91,75 |
| 18 | 123,66 | 124,05 | 123,95 | 121,16 | 44 | 91,454 | 87,58 | 93,38 | 90,74 |
| 19 | 123,16 | 124,05 | 123,95 | 121,65 | 45 | 90,56 | 86,32 | 91,74 | 88,84 |
| 20 | 123,16 | 124,54 | 123,95 | 123,15 | 46 | 89 | 84,32 | 89,38 | 86,98 |
| 21 | 123,15 | 124,54 | 124 | 122,65 | 47 | 88,56 | 83,62 | 87,11 | 85,84 |
| 22 | 123,15 | 124,04 | 123,15 | 122,65 | 48 | 87,54 | 82,69 | 85,34 | 82,69 |
| 23 | 123,15 | 124,54 | 122,15 | 122,65 | 49 | 85,25 | 81,63 | 82,46 | 80,54 |
| 24 | 122,65 | 124,54 | 122,15 | 122,65 | 50 | 84,12 | 80,23 | 81,52 | 79,52 |
| 25 | 122,15 | 124,54 | 122,65 | 122,65 | | | | | |

Fuente: elaboración propia, con HOBOWare versión 3.4.1.

Apéndice 9. **Distribución de temperaturas de la cámara del autoclave de los puntos fríos con respecto al punto más caliente**

Tabla 21. **Diferencia de temperatura corrida 1, cámara cargada**

| Izquierdo $\Delta T_a = T_2 - T_1$ | Derecho $\Delta T_b = T_2 - T_3$ | Frente $\Delta T_c = T_2 - T_4$ |
|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 2,40 | 1,89 | 3,60 |
| 1,39 | 1,89 | 3,39 |
| 1,54 | 1,89 | 3,39 |
| 1,39 | 1,89 | 2,39 |
| 1,39 | 1,89 | 1,39 |
| 0,49 | 0,49 | 0,49 |
| 0,49 | 0,49 | 0,89 |
| 0,49 | 0,49 | 0,49 |
| 0,88 | 0,49 | 0,89 |
| 0,89 | 1,89 | 0,89 |
| 0,89 | 1,39 | 0,49 |
| 1,39 | 1,89 | 0,99 |
| 2,00 | 2,89 | 2,29 |
| 1,50 | 1,39 | 1,79 |
| 1,49 | 0,49 | 1,79 |
| 1,39 | 0,89 | 1,68 |
| 1,99 | 2,39 | 0,89 |
| 2,39 | 0,49 | 0,89 |
| 0,90 | 1,50 | 0,40 |
| 2,40 | 1,50 | 1,00 |
| 2,40 | 0,90 | 1,00 |
| 1,38 | 1,36 | 1,37 |

Fuente: elaboración propia

Continuación de Apéndice 9

Tabla 22. **Diferencia de temperatura corrida 2, cámara cargada**

| Izquierdo $\Delta T(T2-T1)$ | Derecho $\Delta T (T2-T3)$ | Frente $\Delta T (T2-T4)$ |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 2,57 | 1,53 | 2,60 |
| 1,69 | 1,53 | 2,60 |
| 2,22 | 0,60 | 3,13 |
| 2,22 | 0,60 | 1,97 |
| 2,13 | 0,60 | 1,97 |
| 0,92 | 0,60 | 1,97 |
| 1,58 | 0,60 | 1,87 |
| 1,53 | 0,62 | 1,98 |
| 1,53 | 0,62 | 1,98 |
| 1,53 | 0,72 | 1,98 |
| 2,00 | 1,89 | 1,55 |
| 1,49 | 1,89 | 2,05 |
| 1,49 | 1,85 | 1,05 |
| 1,49 | 1,85 | 0,55 |
| 1,49 | 1,85 | 2,05 |
| 0,50 | 1,85 | 2,05 |
| 0,50 | 1,61 | 2,05 |
| 1,49 | 1,61 | 1,95 |
| 1,58 | 1,25 | 1,96 |

Fuente: elaboración propia

Continuación de Apéndice 9

Tabla 23. **Diferencia de temperatura corrida 3, cámara cargada**

| Izquierdo $\Delta T(T2-T1)$ | Derecho $\Delta T (T2-T3)$ | Frente $\Delta T (T2-T4)$ |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 2,39 | 2,39 | 2,89 |
| 1,88 | 1,89 | 2,89 |
| 2,39 | 1,39 | 2,89 |
| 1,90 | 0,50 | 1,40 |
| 0,39 | 0,10 | 2,89 |
| 0,89 | 0,10 | 2,40 |
| 1,38 | 0,59 | 1,39 |
| 1,39 | 0,54 | 1,89 |
| 0,89 | 0,89 | 1,39 |
| 1,39 | 2,39 | 1,89 |
| 1,89 | 2,39 | 1,89 |
| 2,39 | 1,89 | 1,89 |
| 1,89 | 2,39 | 1,89 |
| 0,99 | 1,89 | 0,99 |
| 0,99 | 1,89 | 1,49 |
| 2,89 | 2,39 | 1,49 |
| 1,39 | 1,89 | 1,39 |
| 2,88 | 0,89 | 2,38 |
| 2,38 | 0,49 | 2,38 |
| 1,71 | 1,42 | 1,98 |

Fuente: elaboración propia

Continuación de Apéndice 9

Tabla 24. **Diferencia de temperatura corrida 1, cámara vacía**

| Izquierdo $\Delta T_a = T_2 - T_1$ | Derecho $\Delta T_b = T_2 - T_3$ | Frente $\Delta T_c = T_2 - T_4$ |
|---------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| 3,11 | 0,61 | 2,61 |
| 3,10 | 1,11 | 2,11 |
| 2,61 | 0,61 | 1,61 |
| 1,11 | 1,21 | 2,21 |
| 1,61 | 2,10 | 2,10 |
| 3,10 | 1,60 | 1,60 |
| 2,01 | 2,00 | 1,00 |
| 3,01 | 1,51 | 0,51 |
| 2,51 | 2,00 | 1,00 |
| 2,51 | 1,90 | 0,90 |
| 2,01 | 0,90 | 0,90 |
| 2,56 | 1,53 | 0,53 |
| 2,56 | 2,06 | 3,06 |
| 2,56 | 1,56 | 2,56 |
| 2,06 | 1,06 | 2,06 |
| 1,56 | 1,06 | 2,06 |
| 1,56 | 0,56 | 1,56 |
| 1,20 | 0,66 | 0,66 |
| 1,13 | 1,66 | 0,66 |
| 1,66 | 2,15 | 1,15 |
| | | |
| 2,13 | 1,43 | 1,49 |

Fuente: elaboración propia

Continuación de Apéndice 9

Tabla 25. **Diferencia de temperatura corrida 2, cámara vacía**

| Izquierdo $\Delta T(T2-T1)$ | Derecho $\Delta T (T2-T3)$ | Frente $\Delta T (T2-T4)$ |
|--------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| 3,08 | 1,27 | 2,59 |
| 2,59 | 1,27 | 2,10 |
| 2,86 | 0,36 | 2,86 |
| 0,86 | 0,36 | 2,35 |
| 1,56 | 1,53 | 2,85 |
| 0,35 | 1,53 | 1,86 |
| 3,03 | 1,29 | 2,03 |
| 3,03 | 0,22 | 1,13 |
| 2,53 | 0,22 | 1,14 |
| 1,53 | 0,32 | 1,53 |
| 1,95 | 1,53 | 1,95 |
| 1,45 | 2,06 | 1,45 |
| 1,45 | 1,56 | 1,45 |
| 2,45 | 1,06 | 2,45 |
| 1,94 | 1,06 | 2,95 |
| 2,45 | 1,56 | 2,45 |
| 2,36 | 1,48 | 1,37 |
| 2,36 | 1,48 | 2,86 |
| 2,36 | 1,48 | 2,36 |
| 1,98 | 1,48 | 0,37 |
| 2,11 | 1,16 | 2,01 |

Fuente: elaboración propia

Continuación de Apéndice 9

Tabla 26. **Diferencia de temperatura corrida 3, cámara vacía**

| Izquierdo $\Delta T(T2-T1)$ | Derecho $\Delta T (T2-T3)$ | Frente $\Delta T (T2-T4)$ |
|---|--|---|
| 2,90 | 1,38 | 2,40 |
| 3,39 | 2,44 | 1,39 |
| 3,39 | 1,93 | 0,99 |
| 2,31 | 1,93 | 1,89 |
| 2,31 | 1,93 | 3,38 |
| 2,39 | 1,83 | 2,89 |
| 2,00 | 2,55 | 1,00 |
| 2,15 | 2,55 | 1,50 |
| 1,50 | 2,55 | 2,50 |
| 1,50 | 2,55 | 3,00 |
| 1,50 | 2,05 | 2,49 |
| 1,50 | 1,05 | 2,49 |
| 2,10 | 0,45 | 1,40 |
| 2,10 | 1,95 | 0,50 |
| 2,10 | 1,95 | 1,00 |
| 1,39 | 1,95 | 1,00 |
| 1,39 | 1,85 | 1,40 |
| 2,11 | 1,93 | 1,84 |

Fuente: elaboración propia

Apéndice 10. **Fotografías de ampollas de Frycialgina**

Fotografía 1. **Reactivo de lisado de amebocitos de limulus (LAL)**



Fuente: Laboratorios Alfa Farmacéutica, S.A. 9 de octubre del 2012.

Fotografía 2. **Caldo tioglicolato con tripticasa de soya**



Fuente: Laboratorios Alfa Farmacéutica, S.A. 9 de octubre del 2012.

Apéndice 11. Control de calidad Alfa Farmacéutica.



ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Guatemala, 12 de Octubre de 2012.

Control de Calidad Área de Microbiología

Producto: Frycialgina, Ampolla contenido 2ml.

Solución parenteral de bajo volumen esterilizado en autoclave.

Muestra: 20 ampollas por lote (las muestras son recolectadas por corrida de diferente lote).

Detalle de análisis microbiológico:

Tabla No. 1
Esterilización en autoclave, parámetros de control 121°C y 10 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 24/09/2012 | No. análisis: 1528 al 1530 |
|------------------------------|---|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | NO APROBADO |

Tabla No. 2
Esterilización en autoclave, parámetros de control 121°C y 15 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 25/09/2012 | No. análisis: 1531 al 1533 |
|------------------------------|---|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Tabla No. 3
Esterilización en autoclave, parámetros de control 121°C y 20 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 26/09/2012 | No. análisis: 1534 al 1536 |
|------------------------------|---|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Alfa Farmacéutica, S.A., Dirección: Avenida Petapa 15-77 Zona 12, Ciudad de, Guatemala, Guatemala
email: alfasagu@hotmail.com, PBX: (502) 2428-4900

Fuente: elaboración propia con la ayuda de Alfa Farmacéutica.

Continuación de Apéndice 11



ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Tabla No. 4
Esterilización en autoclave, parámetros de control 121°C y 25 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 27/09/2012 | No. análisis: 1537 al 1539 |
|------------------------------|--|------------------------------------|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coágulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coágulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coágulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Licda. Gabriela Cifuentes Flores
Química Bióloga
Colegiada No. 3917

Licda. Gabriela Cifuentes
Química Bióloga
Área de Microbiología
Departamento de Control de Calidad
ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Continuación de Apéndice 11



ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Guatemala, 5 de Noviembre de 2012.

**Control de Calidad
Área de Microbiología**

Producto: Frycialgina, Ampolla contenido 2ml.

Solución parenteral de bajo volumen esterilizado en autoclave.

Muestra: 20 ampollas por lote (las muestras son recolectadas por corrida de diferente lote).

Detalle de análisis microbiológico:

Tabla No. 5
Esterilización en autoclave, parámetros de control 115°C y 10 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 16/10/2012 | No. análisis: 1540 al 1542 |
|------------------------------|--|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | NO APROBADO |

Tabla No. 6
Esterilización en autoclave, parámetros de control 115°C y 15 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 17/10/2012 | No. análisis: 1543 al 1545 |
|------------------------------|--|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | NO APROBADO |

Tabla No. 7
Esterilización en autoclave, parámetros de control 115°C y 20 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 18/10/2012 | No. análisis: 1546 al 1548 |
|------------------------------|--|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Alfa Farmacéutica, S.A., Dirección: Avenida Petapa 15-77 Zona 12, Ciudad de, Guatemala, Guatemala
email: alfasagu@hotmail.com, PBX: (502) 2428-4900

Fuente: elaboración propia con la ayuda de Alfa Farmacéutica.

Continuación de Apéndice 11



ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Tabla No. 8
Esterilización en autoclave, parámetros de control 115°C y 25 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 19/10/2012 | No. análisis: 1549 al 1551 |
|------------------------------|---|------------------------------------|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Licda. Gabriela Cifuentes Jiron
Química Bióloga
Colegiada No. 3917

Licda. Gabriela Cifuentes
Química Bióloga
Área de Microbiología
Departamento de Control de Calidad
ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Continuación de Apéndice 11



ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Guatemala, 11 de Diciembre de 2012.

**Control de Calidad
Área de Microbiología**

Producto: Frycialgina. Ampolla contenido 2ml.

Solución parenteral de bajo volumen esterilizado en autoclave.

Muestra: 20 ampollas por lote (las muestras son recolectadas por corrida de diferente lote).

Detalle de análisis microbiológico:

Tabla No. 9
Esterilización en autoclave, parámetros de control 125°C y 10 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 5/11/2012 | No. análisis: 1552 al 1554 |
|------------------------------|---|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml Turbidez | Cumple No Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | NO APROBADO |

Tabla No. 10
Esterilización en autoclave, parámetros de control 125°C y 15 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 6/11/2012 | No. análisis: 1555 al 1557 |
|------------------------------|---|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Tabla No. 11
Esterilización en autoclave, parámetros de control 125°C y 20 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 7/11/2012 | No. análisis: 1558 al 1560 |
|------------------------------|---|--|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

Alfa Farmacéutica, S.A., Dirección: Avenida Petapa 15-77 Zona 12, Ciudad de, Guatemala, Guatemala
email: alfasagu@hotmail.com, PBX: (502) 2428-4900

Fuente: elaboración propia con la ayuda de Alfa Farmacéutica.

Continuación de Apéndice 11



ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Tabla No. 12
Esterilización en autoclave, parámetros de control 125°C y 25 minutos.

| Corrida | PRUEBA | Fecha: 7/11/2012 | No. análisis: 1561 al 1563 |
|------------------------------|---|------------------------------------|----------------------------|
| | | Resultado | Conclusión de prueba |
| 1 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 2 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| 3 | -Método coagulo-gel reactivo LAL. Endotoxinas Bacterianas (60 min.) -Test de Esterilidad (7 - 14 días) | < 0.50 UE/ml No existe turbidez | Cumple Cumple |
| Fuente: Datos Experimentales | | Conclusión de la esterilización | APROBADO |

I. RESULTADOS

▪ **Método coagulo-gel de la prueba LAL.**

PIROGENO: Formación de coágulo en el tubo y no se desprende al girarlo.
Reportar: > 0.5 UE/ml. Hay presencia de pirógenos. No cumple la prueba

APIROGENO: Al girar el tubo NO se forma coágulo y queda solución líquida.
Reportar: < 0.5 UE/ml, cumple con el análisis y se aprueba la muestra.

La prueba oficial a la que se hace referencia en monografías específicas:
* USP Prueba de Endotoxina Bacterianas (USP 34 Bacterial Endotoxins Test(85)).
* Norma COGUANOR NGO 6 045

▪ **Test de Esterilidad**

Evaluar la inocuidad de los productos farmacéuticos de soluciones parenterales y soluciones estériles.

Si existe turbidez, reportar el análisis como **"No cumple"** esterilidad.
Si no hay turbidez, reportar el análisis como **"Cumple"** esterilidad
Cualquier signo de turbidez, indica presencia bacteriana.
USP 32, STERILITY TESTS (71), Microbiological tests.

Licda. Gabriela Cifuentes Jara
Química Bióloga
Colegiada No. 3917

Licda. Gabriela Cifuentes
Química Bióloga
Área de Microbiología
Departamento de Control de Calidad
ALFA FARMACÉUTICA, S.A.

Alfa Farmacéutica, S.A., Dirección: Avenida Petapa 15-77 Zona 12, Ciudad de, Guatemala, Guatemala
email: alfasagu@hotmail.com, PBX: (502) 2428-4900

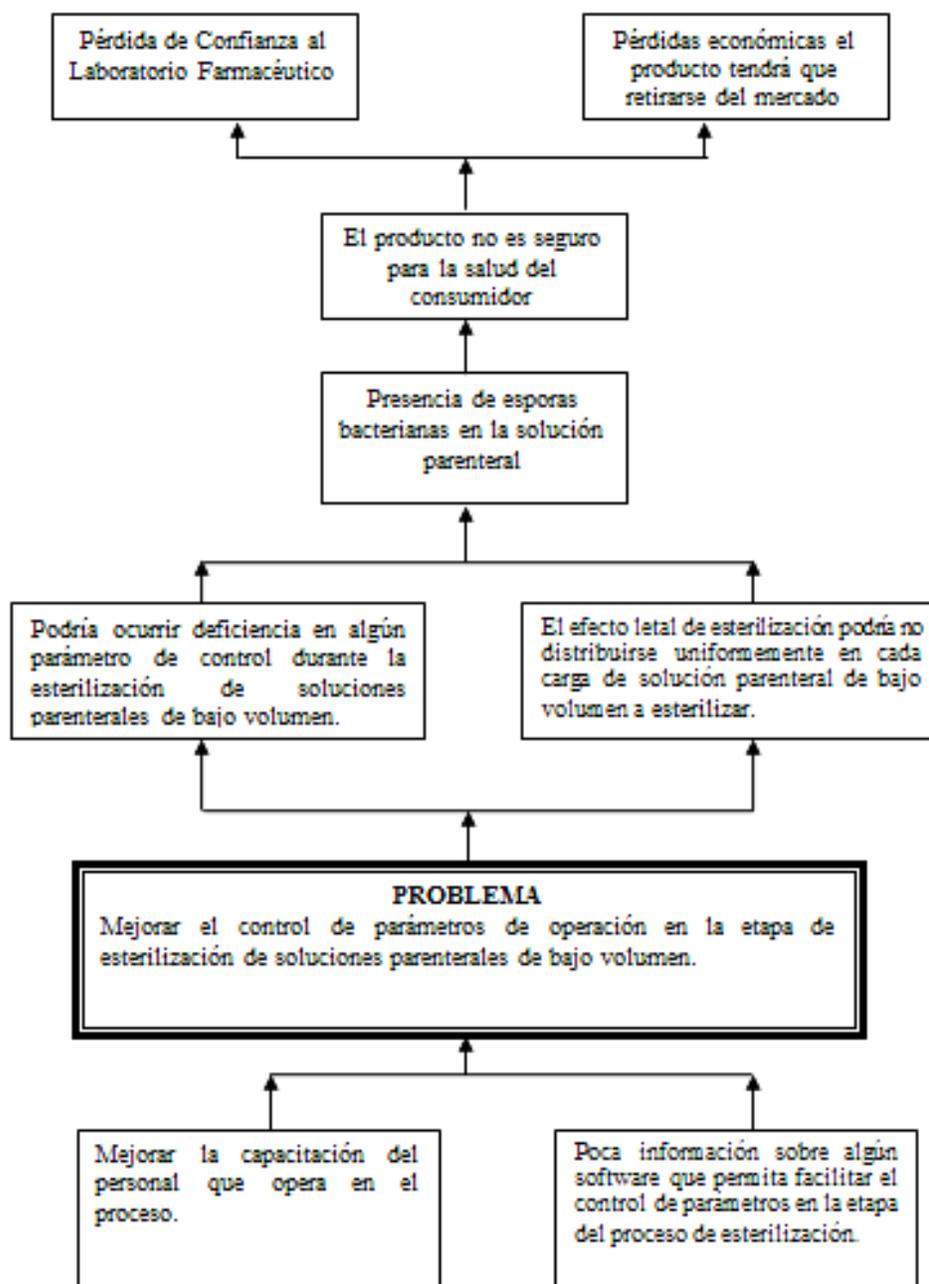
Fuente: elaboración propia con la ayuda de Alfa Farmacéutica.

Apéndice 12. **Tabla de requisitos académicos.**

| Área | Cursos |
|---|---|
| Química | Química 3 |
| | Química 4 |
| | Análisis Cualitativo |
| | Análisis Cuantitativo |
| | Bioquímica |
| | Química Orgánica 1 |
| Fisicoquímica | Fisicoquímica 1 |
| | Fisicoquímica 2 |
| | Laboratorio Fisicoquímica 1 |
| | Laboratorio Fisicoquímica 2 |
| | Termodinámica 3 |
| | Cinética de procesos químicos |
| | Termodinámica 4 |
| Operaciones Unitarias | IQ 1. Balance de masa y energía |
| | IQ 2. Flujo de Fluidos |
| | IQ 3. Transferencia de calor |
| | IQ 4. Transferencia de masa |
| | IQ5 Transferencia de masa en unidades continuas |
| | Laboratorio de Operaciones Unitarias 1 |
| | Laboratorio de Operaciones Unitarias 2 |
| Ciencias Básicas y Complementarias | Matemática Básica 1 |
| | Matemática Básica 2 |
| | Matemática Intermedia 1 |
| | Estadística 1 |
| | Estadística 2 |
| | Física Básica |
| | Física 1 |
| | Ingeniería Eléctrica 1 |
| Especialización | Bioingeniería |
| | Microbiología Industrial |
| | Operaciones y Procesos en la Industria Farmacéutica |
| | Diseño de Equipo |
| | Ingeniería Económica 3 |

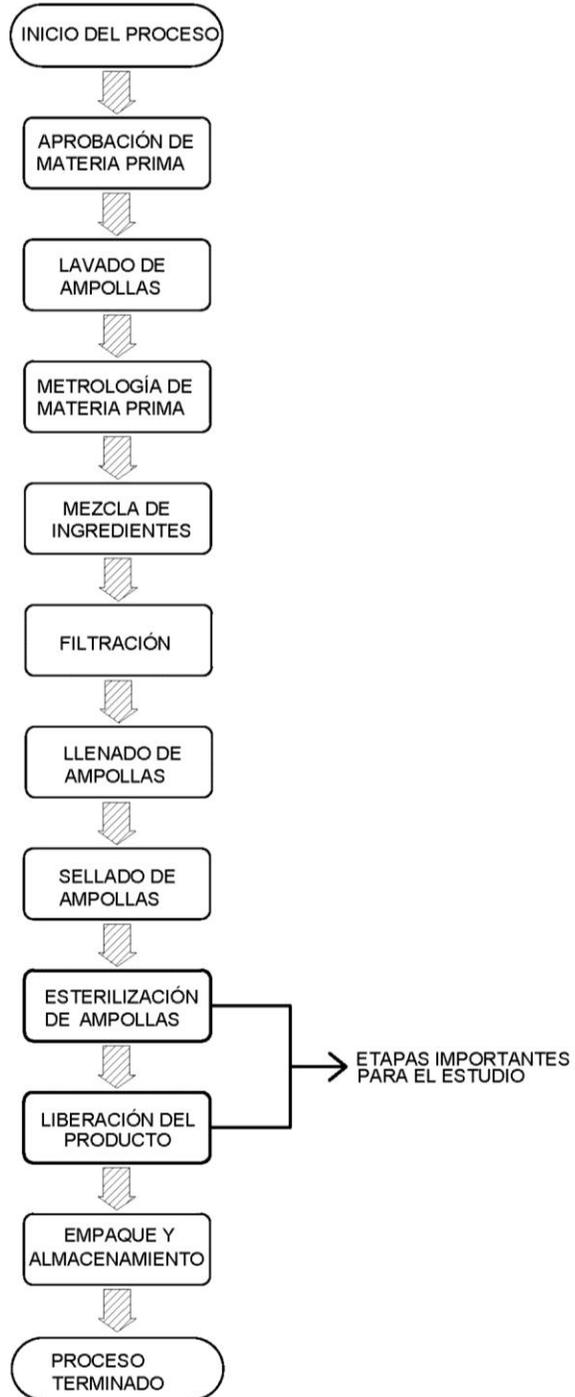
Fuente: elaboración propia.

Apéndice 13. **Árbol de problemas para la esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen.**



Fuente: elaboración propia.

Apéndice 14. **Diagrama del proceso de esterilización de soluciones parenterales de bajo volumen.**



Fuente: elaboración propia.

ANEXOS

Anexo 1. Datos teóricos de presión y temperatura

| Temperatura | | Presión | | | Temperatura | | Presión | | |
|-------------|--------|---------|--------|-------|-------------|--------|---------|--------|-------|
| (°F) | (°C) | (Psia) | (Psi) | (Bar) | (°F) | (°C) | (Psia) | (Psi) | (Bar) |
| 212 | 100 | 14,696 | 0 | 0 | 255 | 123,88 | 32,53 | 17,830 | 1,230 |
| 215 | 101,67 | 15,592 | ,892 | 0,062 | 260 | 126,66 | 35,43 | 20,730 | 1,430 |
| 220 | 104,44 | 17,186 | 2,486 | 0,171 | 265 | 129,44 | 38,53 | 23,830 | 1,643 |
| 225 | 107,22 | 18,912 | 4,212 | 0,290 | 270 | 132,22 | 47,66 | 32,960 | 2,273 |
| 230 | 110 | 20,78 | 6,08 | 0,419 | 280 | 137,77 | 49,2 | 34,50 | 2,379 |
| 235 | 112,78 | 22,79 | 8,09 | 0,558 | 285 | 140,55 | 53,24 | 38,540 | 2,658 |
| 240 | 115,56 | 24,97 | 10,27 | 0,708 | 290 | 143,33 | 57,55 | 42,850 | 2,955 |
| 245 | 118,33 | 27,31 | 12,61 | 0,870 | 295 | 146,11 | 62,13 | 47,430 | 3,271 |
| 250 | 121,11 | 29,82 | 15,120 | 1,043 | 300 | 148,88 | 67,01 | 52,310 | 3,608 |

Fuente: VAN NESS, Hendrick C. *introducción a la termodinámica en ingeniería química*.

P. 806.

Anexo 2. Funcionamiento de *data logger*

Figura 1. Listado de datos del **Software HOBOWare version 3.4.1**

The screenshot displays the HOBOWare software interface with the following sections:

- Step 1: Deployments, select deployments whose data you want to plot/export**
 - Buttons: All, None
 - Table:

| Depl # | Label | Start Time | End Time |
|---------------------------------------|------------------|----------------------|----------------------|
| <input checked="" type="checkbox"/> 1 | First Deployment | 01/21/12 02:53:25 PM | 07/11/13 02:57:30 PM |
- Step 2: Nodes, select to show sensors**
 - Buttons: All, None
 - Table:

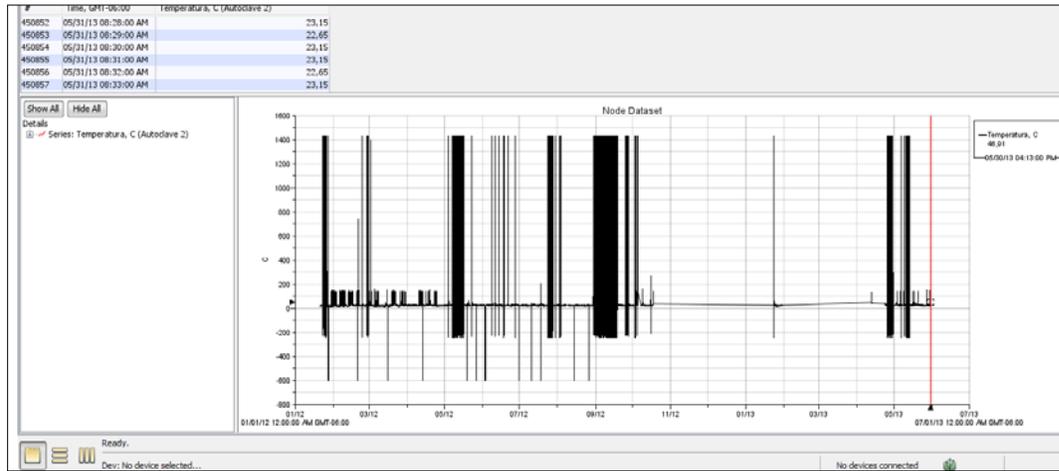
| Label | S/N | Depl # |
|---|-----|--------|
| <input checked="" type="checkbox"/> 9826229 | | 1 |
- Step 3: Node Sensors, click arrow to add data to plot/export**
 - Buttons: Include all sensors, Use Groups to filter list
 - Table:

| Label | S/N | Depl # | Measurement Type | Group(s) | # Samples |
|-------------|-----------|--------|------------------|----------|-----------|
| Autoclave 1 | 9995795-1 | 1 | Temperatura | | 451463 |
| Autoclave 2 | 9995795-2 | 1 | Temperatura | | 451459 |
| Autoclave 3 | 9995795-3 | 1 | Temperatura | | 26 |
| Autoclave 4 | 9826229-1 | 1 | Temperatura | | 452040 |
| Autoclave 5 | 9826229-2 | 1 | Temperatura | | 452040 |
| Autoclave 5 | 9826229-3 | 1 | Temperatura | | 452014 |
 - Step 4: Time Range, limits of plot/export**
 - Radio buttons: Custom, Preset
 - Custom: Start Time: 01/21/12 02:53:25 PM, End Time: 07/11/13 02:57:30 PM
 - Presets: All data, Start Time: 01/21/12 02:53:25 PM, End Time: 07/11/13 02:57:30 PM
 - Sensors to plot/export**
 - Radio buttons: Exclude all sensors, Include sensors here to plot or export
 - Total number of samples: 0

Fuente: software HOBOWare version 3.4.1

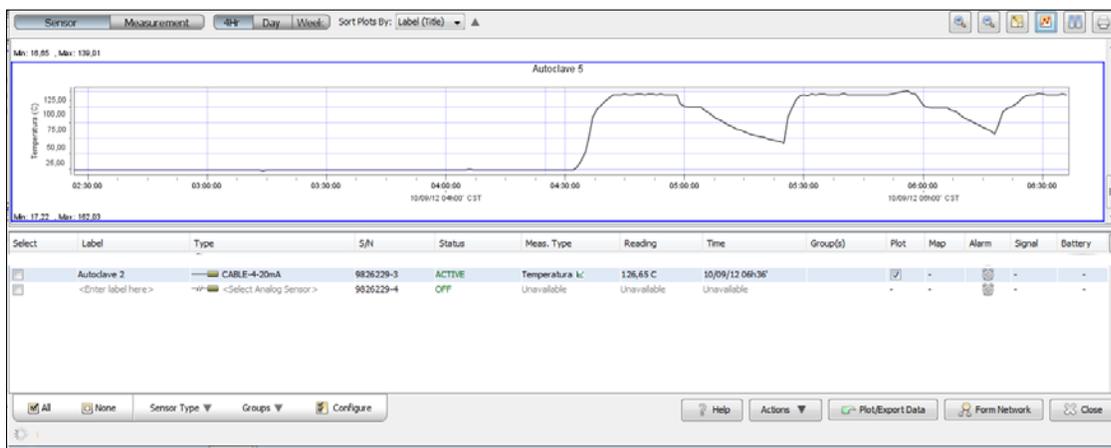
Continuación de Anexo 2

Figura 2. Gráfica general de los ciclos de esterilización del 2012 al 2013



Fuente: software HOBOWare version 3.4.1

Figura 3. Ciclo de esterilización soluciones Frcyalgina en autoclave 2



Fuente: software HOBOWare version 3.4.1

VALIDACIONES



Roberto Español, GTI (Quality Technical Iberica)
<http://www.gtis.es>

Intentaremos en este artículo describir en detalle los parámetros que describía la anterior normativa, con sus posibles interpretaciones, para, a continuación, pasar a describir en profundidad aquellos aspectos que nosotros consideramos críticos desde el punto de vista de la validación de autoclaves, ajustándonos a las exigencias de la nueva norma.

Implicaciones prácticas en materia de validación de la nueva norma ISO-17665 frente a la derogada une-EN-554

Antecedentes

La experiencia nos demuestra que la cualificación de equipos de esterilización térmica por vapor es, hoy por hoy, uno de los "talones de Aquiles" de la industria farmacéutica y biosanitaria, principalmente en aquellos sectores en cuyo proceso productivo existe alguna etapa que requiera esterilización microbiológica y, más aún, en aquellos que fabriquen medicamentos parenterales o que requieran de esterilización térmica terminal.

No obstante, y pese a los adelantos técnicos que se han dado en los últimos años en el campo de la ingeniería de autoclaves, en muchos casos demostrar de manera documentada que se cumplan con las condiciones de esterilidad exigidas por la normativa correspondiente, suele suponer un esfuerzo extra, tanto técnico como de interpretación, en el campo de la validación.

La nueva norma ISO-17665 fue publicada en el mes de junio de 2007, bajo el título de "Esterilización de productos sanitarios. Calor húmedo. Parte 1: Requisitos para el desarrollo, validación y control de rutina de un proceso de esterilización para productos sanitarios", y, aunque desde el primer día de su publicación y entrada en vigor derogó a la anterior norma UNE-EN-554 de 1994, se ha comprobado que, hoy en día, tanto por parte del usuario como por parte de muchos organismos auditores, existe un gran desconocimiento en cuanto a los requisitos operacionales que establece.

De hecho, en los últimos cuatro años -desde la entrada en vigor de la ISO-17665-, hemos observado que en la mayoría de

laboratorios los criterios térmicos de validación que establecía la anterior normativa se mantienen vivos, tanto en la fase de OQ como en la de PQ, pese a los profundos cambios que han tenido lugar precisamente en este aspecto. El motivo, por lo que hemos podido comprobar en casi todos los casos, es el desconocimiento técnico que el usuario suele tener acerca de dichos criterios térmicos; los cuales, por otro lado, en muchos casos eran excesivamente restrictivos para autoclaves cuyo funcionamiento era perfectamente válido -y validable- para el uso al que estaba destinado y con el producto que se deseaba esterilizar.

Explicación de los criterios de la antigua norma UNE-EN-554

A continuación se recogen los criterios térmicos descritos en la anterior normativa

(apartados 5.3.2.cualificación del funcionamiento, y 5.3.3.condiciones de esterilización específicas):

"La temperatura y la presión se mantendrán constantes o seguirán un perfil predeterminado durante el tiempo de mantenimiento"

(TIEMPO DE MANTENIMIENTO: periodo de tiempo durante el cual la temperatura de todos los puntos de la carga de esterilización se mantiene dentro de la banda de temperatura de esterilización).

La primera cuestión que nos surge al leer este apartado es saber a qué se refiere la norma con los términos constante o perfil determinado. Por lo que se deduce, este perfil queda "a elección" del usuario; no obstante, cada tipo de autoclave suele presentar un perfil determinado de regulación, en función de la precisión y la exactitud de

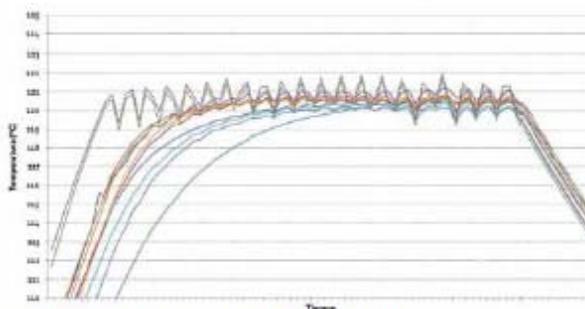


Figura 1: Perfiles de calentamiento de una carga tipo, según producto y masa

Continuación de Anexo 3

su sistema de medida y control, por lo que este apartado presenta cierta ambigüedad metrológica, cosa que se incrementa al considerar en el mismo párrafo la carga de esterilización, ya que dicho perfil de temperaturas diferirá enormemente en función de la masa y la naturaleza del producto a esterilizar. En la figura 1 se pueden observar distintos perfiles de calentamiento de una carga tipo, variables en función de la naturaleza del producto y su masa, sometidos todos ellos a un programa de esterilización por autoclavado.

"Las temperaturas que se midan durante el tiempo de mantenimiento:

a) deben encontrarse dentro de la banda de la temperatura de esterilización, siendo el límite superior la suma de la temperatura de esterilización más 2K...

De este párrafo se deduce que la temperatura máxima de esterilización no debería superar en ningún caso en 2K la temperatura prefijada en el controlador del equipo. Ejemplo: si fijamos 121°C como setpoint, en ningún momento ni en ningún lugar de la cámara de esterilización se deben superar los 124°C.

b) no deben fluctuar en más de 1K...

La fluctuación hace referencia a la variación térmica máxima existente a lo largo de toda la meseta de esterilización en su conjunto; es decir, el valor más alto registrado por la sonda máxima menos el valor más bajo de la sonda mínima. Dado que la fluctuación considera el valor absoluto del intervalo $\pm 1^\circ\text{C}$, la diferencia establecida antes debe ser inferior a 2K. En este caso, el problema surge cuando la meseta registra al comienzo de la misma una subida térmica puntual debido a un "flash" o "inyección de vapor", ya que en estos casos dicha diferencia podría ser mayor a los 2K especificados, y es responsabilidad del propio usuario dar por válida una curva de esterilización con ese "pico inicial de calentamiento".

c) no deben diferencarse una de la otra en más de 2K..."

Técnicamente nos referimos a este apartado como dispersión térmica. Esto significa que la temperatura máxima menos la mínima, registrados en cualquier momento de la meseta de esterilización, no debe superar en ningún momento los 2K. Dicho de otro modo: si pudiéramos paralizar el mapeo térmico en un momento t cualquiera, la diferencia de temperatura del punto caliente de la cámara (T_{max}) menos la tempe-

ratura más fría del punto frío de la cámara (T_{min}) debería ser igual o inferior a 2K.

"El tiempo de equilibrio no debe exceder los 15 segundos para las cámaras de esterilizadores hasta 800 litros y no debe sobrepasar los 30 segundos para las mayores"

El tiempo de equilibrio se define como el periodo de tiempo que media entre la obtención de la temperatura de esterilización en la cámara del esterilizador y la obtención de la temperatura de esterilización en todos los puntos de la carga. Este apartado de la norma generó siempre una gran controversia entre los usuarios finales de esterilizadores de vapor, y, de hecho, en base a nuestra experiencia, nunca o muy pocas veces llegó a ser aplicado durante el proceso de validación (concentrándonos en la PQ), ya que, por ejemplo, una carga de medios líquidos de grandes volúmenes (mayor a 1 litro) pueda presentar diferencias de tiempo superiores a los treinta minutos en el citado tiempo de equilibrio. Obviamente, si el paquete de carga es de pequeño tamaño y su masa es igualmente pequeña, las probabilidades de que se cumpla este apartado aumentan considerablemente; sin embargo, reiteramos que esto es algo que se da en muy contadas ocasiones.

"La temperatura del vapor debe encontrarse dentro de la banda de la temperatura de esterilización, estando esta temperatura en correspondencia con su presión de vapor"

Es muy frecuente verificar la presión de vapor dentro de la cámara de esterilización a través de un sistema de medición de presión calibrado y certificado, y, de igual modo, contrastar el valor obtenido con el valor teórico de vapor saturado a la temperatura medida en cada momento. Si la diferencia entre ambas curvas de presión es excesiva, podemos considerar que existe un problema de calidad de vapor (presencia de agua condensada o de gases no condensables, sobrecalentamiento...). Por norma general, dado que el título de vapor mínimo solicitado para autoclaves es de 0,95, consideramos que una diferencia mayor al 5% (expresado en presión absoluta) entre la curva de presión teórica y la real, es indicativo de una pobre calidad de vapor. Otra forma de aproximarnos a la cuantificación de este apartado es convirtiendo la diferencia térmica exigible para la banda de esterilización ($\pm 1\text{K}$) en el valor correspondiente de presión, y verificar si se dan las condiciones exigidas.

Condiciones de esterilización específicas (apartado 5.3.3 de la norma):

a) se basarán en una relación de tiempo/temperatura establecida para el proceso específico (por ejemplo, la Farmacopea Europea recomienda 121°C para un tiempo de mantenimiento mínimo de 15 minutos u otra combinación de temperatura y duración cuya eficacia pueda ser demostrada);

o
b) se basarán en el conocimiento de la carga microbiana del producto sanitario y la resistencia de la carga microbiana a un proceso específico.

Lo habitual para la práctica totalidad de los métodos de cualificación térmica es demostrar las condiciones de esterilización específicas basándose en una combinación específica de tiempo y temperatura dados y programados en el esterilizador. Y además se debe considerar un microorganismo "patrón" que nos sirva de referencia a la hora de correlacionar su "tasa de muerte" con la temperatura y el método de esterilización al que ha sido sometido.

Dicho de otro modo: el objetivo es lograr una reducción específica de la población microbiana teórica (normalmente se parte de una población de 10⁶ esporas y se pretende llegar a una probabilidad matemática de 10⁻⁶ esporas) para un microorganismo de referencia que está estandarizado a nivel mundial (por lo general, se trata del *Geobacillus stearothermophilus*), con unas características de resistencia conocidas (parámetro D, tiempo de reducción logarítmica) al método de esterilización empleado y a una temperatura dada (normalmente se trata de vapor saturado a 121°C).

Todos estos parámetros se relacionan entre sí a través de la conocida fórmula de la letalidad o F_0 :

$$F_0 \text{ acumulado} = \sum \left(10^{\frac{(t-T)}{Z}} \right) \cdot t$$

Donde:
t: Temperatura en el instante de la lectura
T: Temperatura base (121,1 °C)
Z: Incremento de la temperatura requerido para cambiar el valor de D es una unidad logarítmica. Se asume el valor estándar de Z=10
D: Tiempo de reducción decimal. Se asume el valor estándar de D=1
L: Intervalo de lectura (en minutos)

Gracias a esta fórmula meramente matemática se pueden igualar los mismos criterios de esterilización entre diferentes cargas, sometidas a periodos de tiempo y temperaturas de esterilización diferentes, y ajustadas a las propias características físicas de dichas cargas. Por ejemplo: si es-

VALIDACIONES

sterilizamos una carga durante 15 minutos, sometiéndola a una temperatura de vapor húmedo de 121°C, obtendríamos la misma tasa de reducción microbiana (matemáticamente hablando, insisto), que si la sometemos a 116°C durante 47 minutos o a 126 °C durante 5 minutos.

El hecho de que cada producto a esterilizar tenga una masa y un calor específico diferentes hace bastante difícil especificar "a priori" una temperatura de esterilización concreta durante un tiempo determinado (y óptimo), ya que los resultados obtenidos en penetración (dentro de la carga) difieren enormemente de los monitorizados por la sonda de control (ubicada en muchos casos en el desagüe de la cámara de esterilización). ¿Y cómo se soluciona esto? Llevando a cabo un estudio de worst case durante la fase de PQ: introduciríamos la máxima cantidad de carga y aquellas familias de productos que impliquen peores condiciones de conducción térmica; un ejemplo de worst case de cargas sólidas en un laboratorio de producción habitual serían: mangueras de silicona, cargas de INOX muy pesadas, recipientes de PVC, material textil... Y otro ejemplo: si se trata de cargas líquidas, lo habitual es introducir el mayor número posible de botellas y rellenarlas con los volúmenes máximos de líquido contenido; y, además, hacerlo con aquel fluido que presenta un valor más alto de viscosidad. Pero todo esto, por supuesto, adaptado al uso y a la carga habitual: no tiene sentido llevar a cabo un estudio de worst case con un volumen de carga excesivo con respecto a lo normal, o con un tipo de carga que tampoco se corresponde con la habitual, por el simple hecho de tratarse de unas condiciones muy desfavorables.

En las figuras 2 y 3 se ejemplifican dos cargas de comportamientos térmicos muy diferentes dentro del mismo autoclave:

sólidos (figura 2) y líquidos (figura 3). Nótese cómo la inercia térmica de los medios líquidos arroja curvas de temperatura que aumentan muy gradualmente y apenas presentan oscilaciones, mientras que los sólidos adquieren muy rápidamente la temperatura de esterilización y presentan un gran número de oscilaciones.

Por tanto, se recomienda siempre homogeneizar el tipo de carga para cada programa, tanto en cuanto a sus características físicas como a su volumen. Por ejemplo: los materiales de caucho, PVC y silicona son muy malos transmisores térmicos, por lo que es recomendable separarlos de cargas sólidas que apenas presentan impedimento al paso del calor, como pueden ser el vidrio y metal. De igual modo, una botella con 50 o 100 ml de agua pueda alcanzar la temperatura de esterilización en pocos minutos, mientras que si se trata de volúmenes cercanos a 1 litro, podríamos tardar cerca de media hora; esto implica que si estamos esterilizando líquidos termosensibles, tales como medios de cultivo, aquellos ubicados en volúmenes muy grandes podrían no llegar a esterilizarse correctamente, mientras que los pequeños podrían degradarse y/o caramelizarse.

Los nuevos criterios impuestos por la norma UNE EN 17.665 Recomendaciones finales en base a esta norma

La primera conclusión que obtenemos leyendo la nueva norma es que no establece criterio alguno. De la norma extraemos la frase: la CF debe demostrar que el producto ha sido expuesto al proceso de esterilización especificado mediante el equipo a utilizar para la esterilización de rutina. Esto abre enormemente el abanico de posibles combinaciones de temperatura y tiempo que pueden ser programadas por el usuario, a fin de conseguir el nivel de esterili-

EL HECHO DE QUE CADA PRODUCTO A ESTERILIZAR TENGA UNA MASA Y UN CALOR ESPECÍFICO DIFERENTES HACE BASTANTE DIFÍCIL ESPECIFICAR "A PRIORI" UNA TEMPERATURA DE ESTERILIZACIÓN CONCRETA DURANTE UN TIEMPO DETERMINADO

zación deseado (normalmente, un nivel de garantía de esterilización de 10-6).

No obstante, en la Parte 2 de esta norma, que lleva por título Guía de aplicación de la Norma ISO 17665-1, se especifican como recomendación varias combinaciones de tiempo y temperatura, que son las siguientes:

Muchos auditores y usuarios están tomando esta recomendación como condición restrictiva a la hora de dar por válido un ciclo concreto de esterilización, y eso, bajo nuestro punto de vista, es un grave error. Recordemos que no es lo mismo la temperatura monitorizada por la cámara (y registrada) que la temperatura alcanzada en el seno del producto (sólido o líquido). Y ahí es donde radica precisamente el problema: otras combinaciones de tiempo y temperatura, correlacionadas entre sí a través de la fórmula de la letalidad, y medidas a través del proceso de cualificación en cada uno de los puntos de la carga (sobre todo los más desfavorables), arrojarán resultados de letalidad muy satisfactorios, que no tienen por qué ajustarse a la tabla referida antes.

Y de ahí que resulte tan importante monitorizar la penetración térmica en el seno de dicha carga. El usuario suele dar por sentado que la carga se encuentra siempre a la misma temperatura que la monitorizada por la sonda de control de la cámara; sin embargo, esto rara vez ocurre así. Y esta

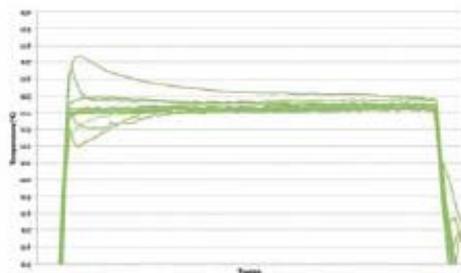


Figura 2: Comportamiento térmico en sólidos

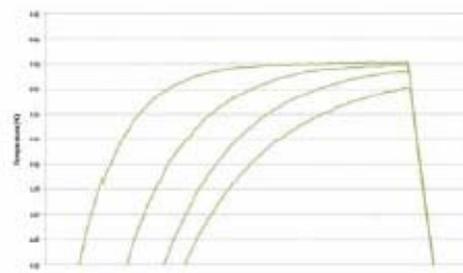


Figura 3: Comportamiento térmico en líquidos

Continuación de Anexo 3

| | | | |
|------------------|-----|-----|-----|
| Temperatura(°C): | 121 | 126 | 134 |
| Tiempo: | 15 | 10 | 3 |

Tabla 1: apartado 3.2: Eficacia microbicida

es el segundo gran problema que nos encontramos. No olvidemos que el vapor que satura la cámara del autoclave no suministra temperatura, sino calor; mejor dicho: energía calorífica; mientras que la temperatura es una medida de la energía interna de las partículas que constituyen el sistema o el cuerpo que se quiere esterilizar (conocido como entalpía), de tal modo que cuanto mayor sea la cantidad de calor recibido y menor sea el impedimento físico que presente el cuerpo, mayor será la temperatura que alcanzará.

Por otro lado, no olvidemos que no es el suministro de energía térmica en forma de temperatura el responsable de la esterilización de los productos, sino la cantidad

de energía liberada por el vapor en el momento de su condensación (varios órdenes de magnitud superiores al calor cedido por conducción) y por ese motivo es tan importante verificar que la saturación de vapor es correcta y que hay ausencia de condensados, bolsas de aire y otras "barreras térmicas" que impidan el contacto entre el vapor y el seno del cuerpo a esterilizar.

En resumen: dos cuerpos con diferente masa y/o calor específico que reciban la misma cantidad de energía (calor), incrementarán su temperatura siguiendo curvas de calentamiento distintas. De ahí que sea recomendable homogeneizar las cargas lo máximo posible, tanto por familias de materiales como por masas introducidas. De

no hacerlo así, podríamos correr el riesgo de no esterilizar correctamente unas cargas y deteriorar/comprometer otras.

Nuestra recomendación final (aparte de la citada homogenización de cargas, por familias y masas) es establecer un **criterio de letalidad** a cumplir por la carga en cuestión, en el programa validado, que asegure un Nivel de Garantía de Esterilización específico (normalmente 10⁻⁶) y que no comprometa en modo alguno las propiedades del producto esterilizado. Se suele acompañar el estudio de una verificación microbiológica a través de indicadores biológicos de esporas de *Geobacillus stearothermophilus*, para asegurar así la correcta eficacia microbicida. Los estudios de cualificación operacional deberían centrarse en demostrar el **cumplimiento de la banda de esterilización** (definiendo temperaturas mínimas y máximas, que no comprometan el SAL ni la integridad del producto, respectivamente) y la **dispersión máxima de temperaturas** entre unos puntos y otros de la cámara del autoclave.

Fuente: ESPAÑOL, Roberto. Validaciones. Consulta 7 de marzo 2012