

Importancia de los análisis de tendencia en monitoreos microbiológicos en ambientes controlados

Importance of trend analysis in microbiological monitoring in controlled environments

Raúl Alejandro Serpas Tejada

Williams Alexander Flores

Unidad de Control de Calidad de Pre y

Post Registro de Medicamentos

Dirección Nacional de Medicamentos

✉ revistadnm@medicamentos.gob.sv

Artículo original

Recibido:

24 de junio de 2022

Aceptado:

24 de octubre de 2022

Publicado:

4 de noviembre de 2022

Resumen

Antecedentes: Los monitoreos microbiológicos ambientales describen las condiciones y carga biológica presente durante la realización de actividades operativas. La información provista por los monitoreos brinda diversos enfoques del estado de las áreas, equipos, personal y ejecución de los procedimientos. **Objetivo:** Mostrar la importancia del análisis de tendencia de los resultados microbiológicos ambientales. **Métodos:** El actual estudio corresponde a los resultados obtenidos en los monitoreos del ambiente del laboratorio de control de calidad microbiológico de la Dirección Nacional de Medicamentos, llevado a cabo en 2019 y 2020, los cuales buscan simular las condiciones exigidas por parte de las buenas prácticas de manufactura (BPM) para la fabricación de productos farmacéuticos, basado en los principales métodos de muestreo, para el monitoreo biológico de áreas sugerido por la Farmacopea de los Estados Unidos de América, siendo estos los monitoreos de aire por método activo y pasivo y el monitoreo microbiológico de superficies por el método de contacto con placa RODAC (Replicate Organism Direct Agar Contact). **Resultados:** Los resultados obtenidos proveen de información acerca de la construcción física del sitio (materiales utilizados), desempeño del sistema de ventilación

HVAC (Heating, Ventilation and Air Conditioning), higiene del personal y conductas de trabajo, así como de las rutinas de limpieza y efectividad de estas. **Conclusión:** El impacto de la pandemia por COVID-19 marca una variabilidad en las tendencias en el desempeño de los sistemas críticos, con incrementos en recuentos microbianos que alcanzan picos de hasta el 88% en áreas de categoría I (relacionadas a actividades analíticas), un 89% en áreas de categoría II (áreas de alto tránsito de personal y movimiento de materiales) y un 85% en áreas de categoría III (acumulación de materiales e insumos), mientras que las actividades del personal sufrieron alteraciones del 56% en áreas de categoría I, asociadas a actividades analíticas.

Palabras clave

Análisis de tendencias, monitoreo microbiológico, identificación microbiana, microbiología, muestreo activo.

Abstract

Background: Environmental microbiological monitoring describes the conditions and biological load present during the performance of operational activities. The information provided by the monitoring provides various approaches to the status of the areas, equipment, personnel and execution of procedures. **Objective:** To show the importance of trend analysis of environmental microbiological results. **Methods:** The current study corresponds to the results obtained in the monitoring of the environment of the microbiological quality control laboratory of the National Directorate of Medicines, carried out in 2019 and 2020, which

seek to simulate the conditions required by good manufacturing practices. (BPM) for the manufacture of pharmaceutical products, based on the main sampling methods, for the biological monitoring of areas suggested by the Pharmacopoeia of the United States of America, these being air monitoring by active and passive method and microbiological monitoring of surfaces by the contact method with RODAC plate (Replicate Organism Direct Agar Contact). **Results:** The results obtained provide information about the physical construction of the site (materials used), performance of the HVAC (Heating, Ventilation and Air Conditioning) ventilation system, personal hygiene and work behaviors, as well as cleaning routines and effectiveness. of this. **Conclusion:** The impact of the COVID-19 pandemic marks a variability in the trends in the performance of critical systems, with increases in microbial counts that reach peaks of up to 88% in category I areas (related to analytical activities), 89 % in category II areas (areas of high traffic of personnel and movement of materials) and 85% in areas of category III (accumulation of materials and supplies), while the activities of the personnel suffered alterations of 56% in areas of category I, associated with analytical activities.

Keywords

Trend analysis, microbiological monitoring, microbial identification, microbiology, active sampling

Introducción

Los monitoreos microbiológicos en ambientes controlados, tanto de fabricación como de control de calidad, componen un elemento esencial para la toma de decisiones de cada organización, basándose en la carga biológica habitual e identificando aquellos eventos anómalos a través de análisis de tendencia. Esto permite al personal realizar toma de decisiones orientadas a la prevención de eventos no deseados, que puedan comprometer los objetivos estratégicos de cada empresa, ya sea la confiabilidad de los resultados o la calidad de los productos (Organización Internacional de Normalización [ISO], 2016a, p. V)(ISO 2005b, p. V).

Los cuartos limpios y ambientes controlados diseñados para el control de la contaminación del aire y, de ser necesario, también de las superficies, permiten alcanzar niveles de aseguramiento en actividades sensibles a la contaminación (ISO, 2001, p. 2) (ISO, 2014c, p. 1) (ISO, 2017, p. 3) (ISO, 2018a, p. v) (Minnesota Mining and Manufacturing Company [3M], 2019, iii). El control de los contaminantes puede ser beneficioso para la protección de los productos o la integridad de los procesos en aplicaciones industriales como la microelectrónica, aeroespacial, farmacéutica, insumos médicos, salud y alimentos (ISO, 2016a, p. V).

Un cuarto limpio es un espacio donde la concentración de partículas (viables y no viables) se encuentra controlado y clasificado, además, se infiere que tanto su diseño, construcción, materiales utilizados y forma de operación se ha pensado con el fin de prevenir aumentos significativos de los contaminantes de manera involuntaria (Mohammed et al., 2011, p. 5) (ISO, 2016a, p. V) (ISO, 2016b, p. 2) (ISO, 2001, p. 2). Para ayudar a visualizar la clasificación de limpieza nos podemos apoyar de diferentes documentos con base a la actividad aplicable como los mostrados en la *tabla 1*.

Tabla 1. Guías y documentos estándar relacionados al monitoreo ambiental

N° de documento	Aplicable a	Resumen
ISO 14644-2:2015	Todos los fabricantes con ambientes controlados	Es una manera de monitorear y diseñar ambientes que excluyen partículas de 0.5 y 5 micras
ISO 14698-1: 2003	Todos los fabricantes con ambientes controlados	Una forma de excluir y monitorear contaminación microbiana
Guía FDA	Productos farmacéuticos y biológicos usando procesos asépticos	Regulaciones para BPM en productos farmacéuticos y procesos asépticos, incluyendo controles ambientales
USP <1116>	Procesos asépticos	Provee recomendaciones para ambientes donde la contaminación microbiana es controlada a través de procesos asépticos.
Reporte técnico N° 13 PDA	Productos farmacéuticos estériles y otros ambientes controlados.	Se enfoca en establecer controles microbiológicos para productos que son comercializados como estériles
AAMI TIR52: 2014/(R)2017	Productores de dispositivos con esterilización terminal	Rutinas de monitoreo de microorganismos viables para productos con esterilización terminal.

Fuente: Kremer, 2019, p. 33

El diseño de las instalaciones es realizado con base a las actividades que se desean desempeñar y "el plan de monitoreo debe basarse en una evaluación de riesgos del lugar de interés. Los datos obtenidos proporcionan evidencia de la sala limpia y el desempeño de la misma, relacionado a la pureza del aire por concentración de partículas"(ISO, 2016b,p. V).

Esto último es de suma importancia, ya que es vital evitar tener una excesiva cantidad de puntos de muestreo que no provean información adicional y generen un gasto innecesario de recursos, a la vez evitando caer en el error de obviar puntos críticos de control, por el temor de obtener resultados fuera de especificación. La gestión de riesgo debe ir orientada a ubicar los lugares donde se realizan las principales actividades operativas, la ubicación de equipos críticos, la proximidad de producto expuesto, la cercanía a los puntos de inyección de aire por parte del HVAC o las áreas con mayor dificultad de limpieza (ISO, 2014b, p. v) (ISO, 2018b, p. 2) (ISO, 2020b, p. 1).

La frecuencia con la que se lleva a cabo un monitoreo dependerá exclusivamente de las actividades que se realizan en el área de interés. En el caso de un laboratorio de control de calidad, el enfoque es la verificación

de condiciones en las que se realizan las actividades analíticas y es por tanto, un atributo que fortalece la confiabilidad de los datos (ISO, 2016a, p. V) (ISO, 2016b, p. V). Sin embargo, las actividades analíticas demandan un menor flujo de personal y materiales, por lo que su frecuencia es mucho más reducida que en un área de fabricación donde esperamos contar con una actividad operativa mayor y una variabilidad más marcada. En este último caso, es necesario cubrir esta fuente de aleatoriedad de los datos, verificando cada turno de trabajo y cada línea de producción (USP,2022, 1116) (FEUM, 2018,721) (OMS,2010).

El objetivo primordial de la recopilación de información obtenida a través de los monitoreos ambientales, radica en su evaluación de tendencia (Casares y Cabo, 2018, p. 4), ya que esta determinará si los procedimientos, equipos y acciones del personal son consistentes a lo largo del tiempo, en lugar de verlos como datos puntuales de momentos dados, mientras que, el objetivo secundario que debe buscarse, es la identificación de los contaminantes habituales en los ambientes controlados. Esto último con el fin de prevenir futuros fuera de especificación ante la introducción de contaminantes anormales en los ambientes controlados (Mohammed et al., 2011, p. 5).

Los beneficios potenciales de un correcto monitoreo son (ISO, 2016b, p. V):

- Mejora en los tiempos de respuesta a los eventos adversos
- Desarrollo de tendencias de datos a lo largo del tiempo
- Posibilidad de integración de datos de múltiples instrumentos o métodos
- Mejora de la comprensión de las instalaciones y procesos, lo que permite generar evaluaciones de riesgo más efectivas
- Mejora el control de los costes operacionales y productos rechazados

Cuando se ha formulado una frecuencia de monitoreo y se han definido sus puntos de muestreo, es recomendable asignar un nivel de alerta y de acción que obligue a tomar decisiones o inicie procesos de investigación (USP,2022, 1116) (OMS,2010). Un nivel de alerta es un parámetro asignado por la organización que permite visualizar un cambio de las condiciones normales de un área controlada y que, en caso de excederse, permita realizar acciones correctivas u obligue a un incremento en la frecuencia de monitoreo. Por otra parte, el nivel de acción es un parámetro normalmente asignado por una normativa y que en caso de ser excedido obliga a tomar acciones inmediatas para corregir la situación, acompañado de una investigación de falla que determine la causa raíz del problema y de qué manera puede abordarse para no caer en reincidencias (ISO, 2016a, p. V).

Bajo lo anterior se observa la necesidad del presente estudio con el objetivo de mostrar la experiencia obtenida durante los años 2019 y 2020 en el laboratorio de control de calidad microbiológico de la Dirección Nacional de Medicamentos, con respecto a las variaciones vividas en este periodo en los monitoreos ambientales de atmósferas controladas y el posible impacto sufrido por la pandemia de COVID-19, constituyendo, este último, un evento disruptivo en la cadena de suministros y el comportamiento del personal.

Materiales y métodos

El estudio se realizó utilizando como base los datos generados en los años 2019 y 2020, con una frecuencia de muestreo mensual, recopilando la información obtenida de los monitoreos ambientales para bacterias, dejando de lado los recuentos obtenidos en evaluaciones de hongos y levaduras, debido a su baja frecuencia y poca relevancia estadística, en el laboratorio de microbiología de la DNM.

El laboratorio cuenta con 156 mts² de construcción y consta de dos áreas principalmente diferenciadas: el área general de clasificación ISO 8 (ver *tabla 3 y 4*) y el área clase B de clasificación ISO 5 (ver *tabla 3 y 4*). Para efectos de este estudio nos centramos únicamente en los datos generados en el área general, debido a que es en este punto donde se realiza el mayor flujo de personal y materiales y brinda una mayor diversidad de datos para realizar un análisis.

Para la agrupación de la información del área general se establecieron tres subcategorías ambientales, con el fin de presentar un mejor orden de los datos tabulados, y poder responder de una manera más realista a los ambientes que realizan actividades similares o que tienen una relación directa entre sí durante la realización de los procedimientos, también aquellos que se ven sometidos a retos ambientales similares, ver *tabla 2*.

Los métodos de muestreo para monitoreo de condiciones microbiológicas fueron los siguientes:

- Método de muestreo de aire activo: utilizando un equipo de muestreo centrífugo, modelo MAS-100NT con placa Petri de 90 mm y 18 mL de agar tripticasa soya (TSA), con un volumen de muestreo de 1 metro cúbico por locación de interés (USP,2022, 1116) (OMS,2010) (JICA, 2010)(ISO 2020a, p. V); el equipo MAS-100 es un dispositivo clasificado como AAS (Active Air Sampler por sus siglas en inglés), con una alta eficiencia biológica, la cual puede definirse como la habilidad de

un AAS para recolectar partículas transportadoras de microorganismos con un mínimo de pérdida de humedad o de microorganismos por la velocidad de aire en el muestreo (Cobb, J. 2020, p. 16).

- Método de muestreo de aire pasivo: utilizando placas de sedimentación de 90 mm con agar tripticasa soya (TSA) y tiempos de exposición de una hora (USP,2022, 1116) (OMS,2010) (JICA, 2010)(ISO 2005, p. 3).
- Método de monitoreo de superficies por placa de contacto: utilizando placas RODAC de 25 cm² con Agar Tripticasa Soya (TSA), con adición de lecitina y tween 80 para la desactivación de agentes antimicrobianos (como trazas de desinfectantes) (USP,2022, 1116) (OMS,2010) (JICA, 2010)(ISO 2020c, p. 3).

Tabla 2. Categorías en las que compone el área general del laboratorio

Método	Categoría	Puntos de muestreo
Método de muestreo de aire activo	Categoría I	Área de límites microbianos 1 (LM1)
		Área de límites microbianos 2 (LM2)
		Área de potencias y manejo de cepas
		Pasillo frente a cuartos de análisis
		Flujo laminar LM1
		Cabina de seguridad biológica LM2
		Cabina de seguridad biológica de potencias y manejo de cepas
		Pasillo general de laboratorio
	Categoría II	Área de incubadoras
		Área de recepción de muestras
		Área de pesadas
		Área de coordinación
		Área de preparación de medios
		Área de lectura de placas
	Categoría III	Esclusa gris hacia área general
		Bodega de muestras
		Bodega de materiales
		Área de lavado y esterilización
Método de monitoreo de superficies por placa de contacto (RODAC)	Categoría I	Área de límites microbianos 1 (LM1)
		Área de límites microbianos 2 (LM2)
		Área de potencias y manejo de cepas
		Flujo laminar LM1
		Cabina de seguridad biológica LM2
		Cabina de seguridad biológica de potencias y manejo de cepas
		Esclusa de potencias y manejos de cepas
	Categoría II	Área de incubadoras
		Área de recepción de muestras
		Área de coordinación
		Área de preparación de medios
		Área de preparación de lecturas
	Categoría III	Esclusa gris hacia área general
		Bodega de muestras
		Bodega de materiales
		Área de lavado y esterilización
Método de muestreo por aire pasivo	Categoría I	Área de lavado de ropa
		Pasillo de área de límites
		Flujo laminar LM1
		Cabina de seguridad biológica LM2
		Cabina de seguridad biológica de potencias y manejo de cepas
		Área de potencias y manejo de cepas
		Área de límites microbianos 1 (LM1)
		Área de límites microbianos 2 (LM2)
		Pasillo de área de límites
	Categoría II	Área de incubadoras
		Área de recepción de muestras
		Área de coordinación
		Área de pesadas
		Área de preparación de medios
	Categoría III	Área de lecturas
		Esclusa gris hacia área general
		Bodega de muestras
		Bodega de materiales
		Área de lavado y esterilización
		Área de lavado de ropa

Fuente: Elaboración propia

La asignación de categorías agrupa el tipo de actividades que se desarrollan. En el caso de la categoría I se agrupan las actividades analíticas (lugares donde se procesan las muestras, que cuentan con una frecuencia de limpieza más alta y rigurosa), en dicha categoría se encuentran las dos áreas de análisis microbiológico de productos no estériles y el área de manejo de cepas y análisis de potencia de antibióticos. En cada una de estas, se tiene un punto de inyección de aire con un filtro HEPA terminal con una eficiencia del 99.95%, un ducto de retorno y una cabina de bioseguridad donde se ejecutan las operaciones. En la categoría II podemos ver áreas de alto tránsito de personal y movimiento de materiales. En dicha área se realizan actividades documentales, preparación de materiales, reactivos e insumos de uso frecuente en operaciones analíticas y también incubación y lectura de resultados de ensayos realizados. Finalmente, en la categoría III se ubican aquellas áreas donde el movimiento de personal es menor o es puntual, pero la acumulación de materiales

e insumos es mucho mayor y, por tanto, constituyen un riesgo de contaminación biológica diferente al resto, tales como áreas de bodega, de las cuales el laboratorio cuenta con dos, una para muestras de análisis y otra para almacenamiento de materiales consumibles y de limpieza; en la misma categoría se encuentra el área de lavado y esterilización.

Método de identificación

Los microorganismos detectados en áreas de interés como cuartos de análisis, cabinas de bioseguridad y mesas de trabajo, fueron identificados utilizando una galería miniaturizada de pruebas bioquímicas de tipo Microgen bacillus ID (Microgen Bioproducts Ltd, 2009).

Las galerías miniaturizadas utilizan una combinación de resultados de pruebas bioquímicas para realizar una caracterización del microorganismo con base a su metabolismo a través del uso de diferentes sustratos, los cuales se describen en la *tabla 5*.

Tabla 3. Límites de contaminación microbiológica recomendados con base a estudios basados en la ISO14698-1 Anexo A

Límites de contaminación microbiológica recomendados (alerta/acción) ^a			
Grado	Muestra de aire impactado UFC/m ³	Placa de sedimentación diámetro 90 mm (UFC/placa/4 horas) ^b	Placa de contacto RODAC
A	<1/NA	<1/NA	<1/NA
B	10/7	5/3	5/3
C	100/170	50/35	25/17
D	200/140	100/70	50/5

^a Valores medios

^b El tiempo de exposición de las placas debe ser igual o menor a 4 horas

NA: no aplicable

Fuente: procedimiento de microbiología clínica recomendaciones de la sociedad española de enfermedades infecciosas y microbiología clínica 2021

Tabla 4. Límites de aceptación microbiológica para el laboratorio de control de calidad microbiológico de la DNM

Límites de contaminación bacteriana en el área general del laboratorio de microbiología (Alerta/Acción)			
Grado	Monitoreo de aire por método activo (UFC/m ³)	Monitoreo de aire por método pasivo (UFC/placa/4 horas) ^a	Monitoreo de superficies, método de contacto (UFC/cm ²)
B (flujos y cabinas de bioseguridad)	1/2	1/2	1/2
D	125/250	25/50	25/50

^a El tiempo de exposición de las placas debe ser igual o mayor a 1 hora y sin superar 4 horas.

Fuente: elaboración propia

Tabla 5. Sustratos empleados en pruebas bioquímicas

Sustratos miniaturizados del kit de identificación Microgen Bacillus ID					
Arabinosa	Adonitol	Celobiosa	Galactosa	Inositol	Metil-D-Manosida
Manitol	Metil-D-glucósido	Manosa	Inulina	Rafinosa	Melicitosa
Ramnosa	Indol	Salicina	Orto-nitrofenil-β-galactósido	Sorbitol	Arginina
Sucrosa	Citrato	Trehalosa	Voges proskauer	Xylosa	Nitrato

Fuente: elaboración propia

Cabe destacar que a todo microorganismo detectado durante un monitoreo ambiental, en donde se produzca un fuera de especificación en áreas generales o un límite de alerta en áreas más estrictas, se le realiza una marcha analítica para su identificación, en el estudio realizado todos los contaminantes detectados pertenecen al género *Bacillus*.

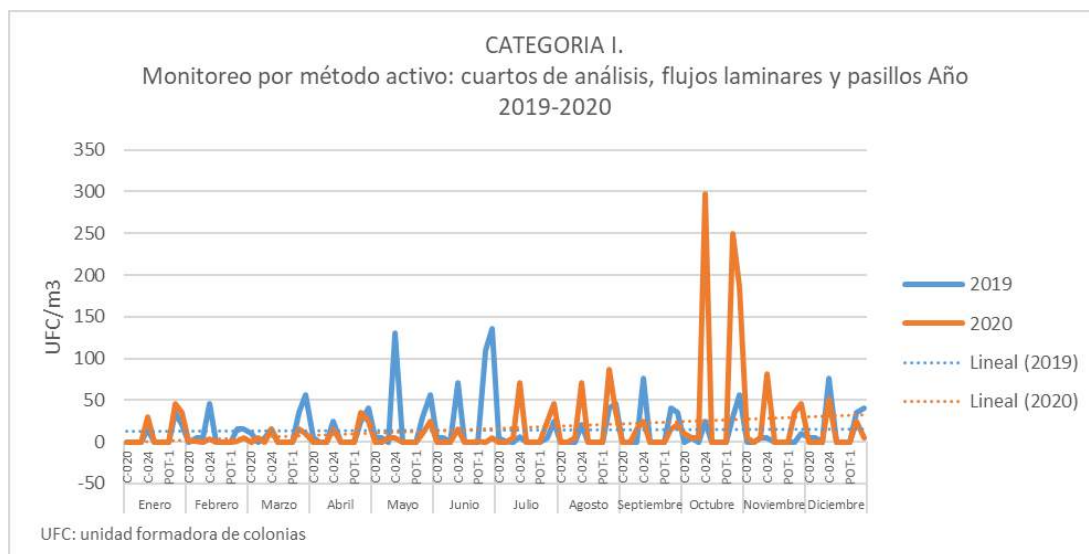
Análisis estadístico

Los datos obtenidos se trataron mediante el uso de un análisis de tendencia entre los años de estudio. El análisis de tendencia es una técnica simple de comparación de datos que se apoya en la recopilación a través del tiempo de una serie de información de interés y permite al usuario proyectar un estimado del comportamiento del área de estudio (Mohamed et al., 2011, p. 5) (OMS,2010) (JICA, 2010).

Resultados

Método activo

Para las tres categorías los resultados se muestran en los *gráficos 1, 2 y 3*. Cabe aclarar que en cada sección descrita en las categorías se encuentran varios puntos de muestreo codificados individualmente, cuyo detalle no es mostrado en la tabla 1 debido a que puede causar confusión, sin embargo, los datos mostrados en los gráficos corresponden a las lecturas puntuales de los recuentos bacterianos obtenidos en el ambiente en cada punto de muestreo.

Gráfico 1. Resultados de monitoreo por método activo para la categoría I, año 2019-2020.

Especificaciones de calidad: límite de alerta: 125 UFC/m³; límite de acción: 250 UFC/m³
Fuente: elaboración propia

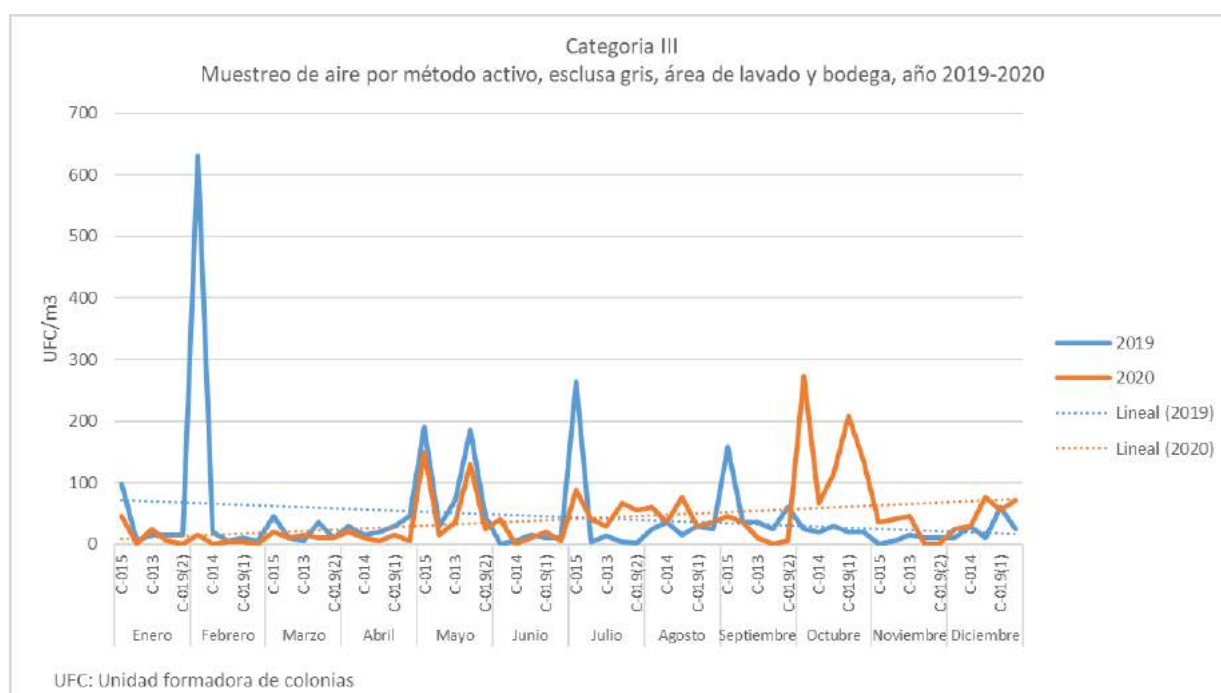
Se muestran los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría I con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados. Se aprecia un incremento significativo de los recuentos microbiológicos en el mes de octubre de 2020, lo cual corresponde a resultados fuera de especificación. Cabe destacar que en los primeros meses de 2020 se puede observar una reducción de los recuentos microbiológicos con respecto a 2019, con un deterioro que inicia en agosto de 2020 y culmina en octubre de ese año, con valores de 297 UFC/m³ y 249 UFC/m³ (señalado en el gráfico), detectado en los pasillos que conducen a las áreas de análisis y el pasillo del área general respectivamente.

Gráfico 2. Resultados de monitoreo por método activo para la categoría II, año 2019-2020

Especificaciones de calidad: límite de alerta: 125 UFC/m³; límite de acción: 250 UFC/m³
Fuente: elaboración propia

Se muestran los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría II con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados. Se puede observar que durante 2020 hubo una reducción de los recuentos microbianos obtenidos con respecto a 2019; sin embargo, se destaca un incremento significativo en octubre de 2020, que corresponde a resultados fuera de especificación, con un conteo de 424 UFC/m³ detectado en el área de incubadoras y niveles de alerta superados con un conteo bacteriano de 226 UFC/m³ en el área de coordinación (señalados en el gráfico 2).

Gráfico 3, resultados de monitoreo por método activo para la categoría III, año 2019-2020



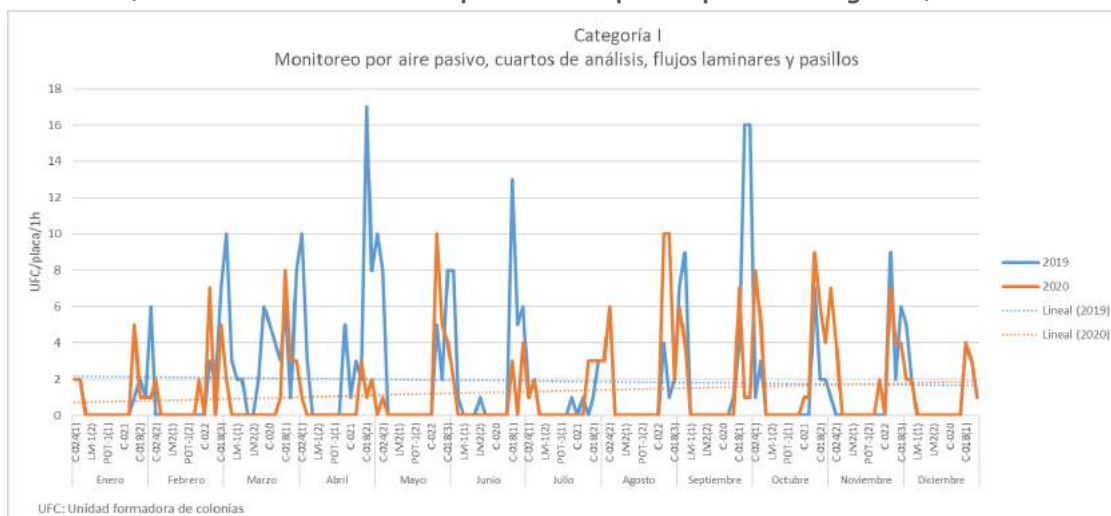
Especificaciones de calidad: límite de alerta: 125 UFC/m³; límite de acción: 250 UFC/m³

Fuente: elaboración propia

Se muestran los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría III con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados. Se observa un pico significativo en los recuentos detectados en febrero de 2019, con un valor de 630 UFC/m³ presentado en la esclusa gris del laboratorio, para luego reportar una disminución significativa en los meses siguientes, exceptuando el mes de junio, en que se presentó el fenómeno nuevamente. Para el caso de 2020, se aprecia una reducción importante en los recuentos detectados hasta llegar a julio, donde la tendencia muestra un desplazamiento positivo (una tendencia en incremento con respecto a los conteos bacterianos), hasta llegar a octubre, en el cual se presentan resultados fuera de especificación en la esclusa gris (273 UFC/m³) y límites de alerta superados en el área de lavado y esterilización con un valor registrado de 209 UFC/m³ (señalados en el gráfico 3).

Método pasivo

Gráfico 4, resultados de monitoreo por método pasivo para la categoría I, año 2019-2020



Especificaciones de calidad: límite de alerta: 50 UFC/placa/hora; límite de acción: 100 UFC/placa/hora

Fuente: elaboración propia

En los *gráficos 4, 5 y 6* se muestran los resultados por categoría. Los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría I con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados. Se aprecia una reducción significativa en los recuentos obtenidos a inicios de 2020 con respecto a 2019, sin presentarse resultados fuera de especificación ni valores de nivel de alerta alcanzados.

Gráfico 5. Resultados de monitoreo por método pasivo para la categoría II, año 2019-2020

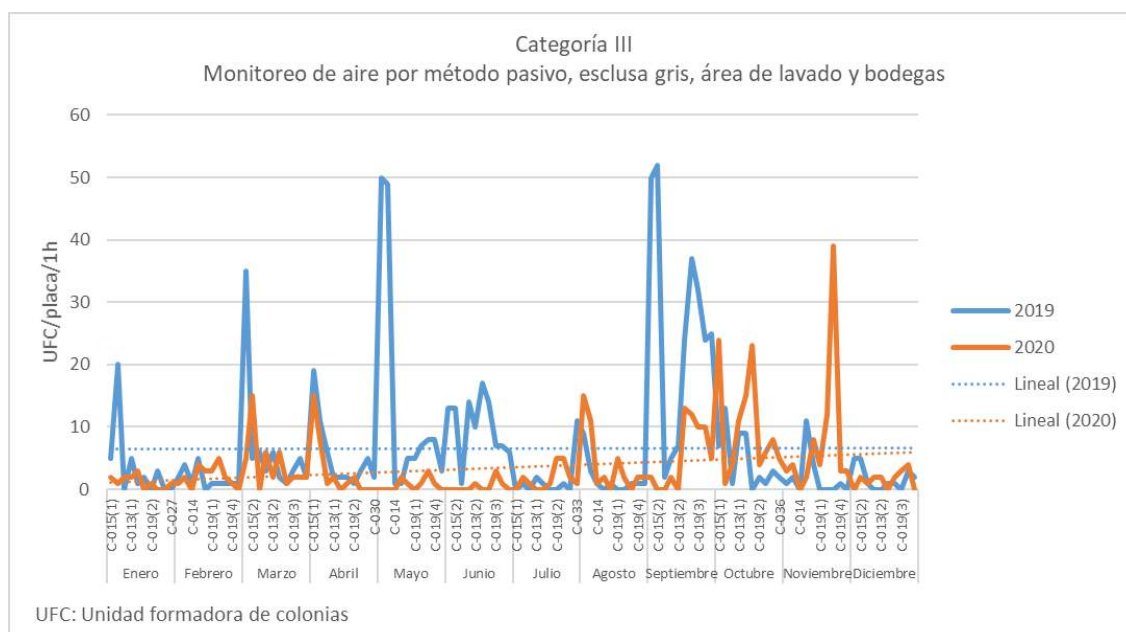


Especificaciones de calidad: límite de alerta: 50 UFC/placa/hora; límite de acción: 100 UFC/placa/hora

Fuente: elaboración propia

En la *gráfica 5* se muestran los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría II con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados. Se observa una reducción en los recuentos obtenidos en 2020 con respecto a 2019, sin presentarse resultados fuera de especificación ni niveles de alerta alcanzados en ninguno de los años.

Gráfico 6. Resultados de monitoreo por método pasivo para la categoría II, año 2019-2020



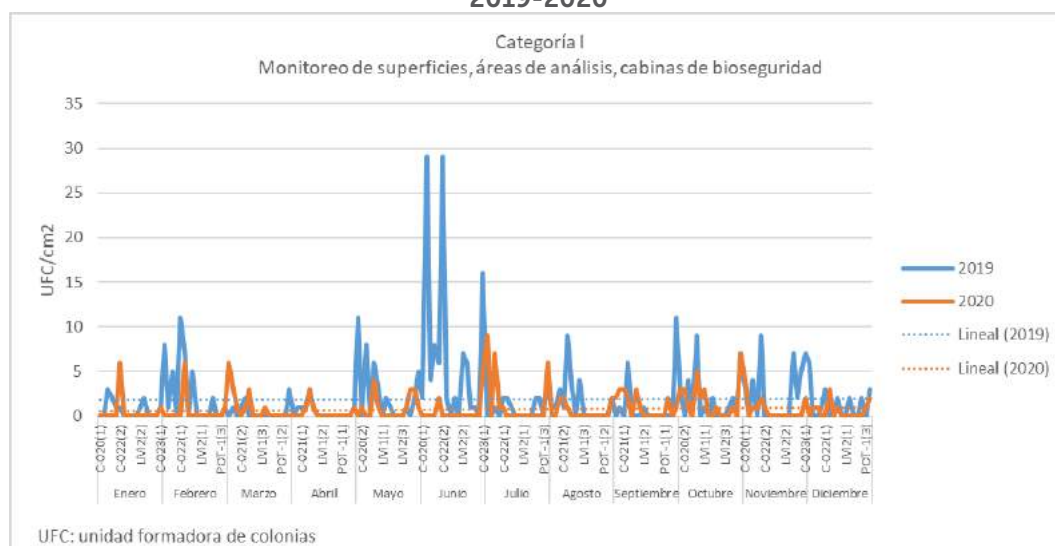
Especificaciones de calidad: límite de alerta: 50 UFC/placa/hora; límite de acción: 100 UFC/placa/hora

Fuente: elaboración propia

En la *gráfica 6* se muestran los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría III con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados. En 2019 se presentaron picos importantes (señalados en el gráfico), en los meses de mayo y septiembre en la esclusa gris hacia el área general, con valores de 49 y 52 UFC/placa/1h respectivamente, siendo valores por encima del nivel de alerta (mayo) y superando el nivel de acción (septiembre), dando lugar a un resultado fuera de especificación, teniendo una reducción importante en la incidencia para el año 2020, donde solo se contó con un valor que superaba el nivel de alerta en noviembre, en el área de lavado con un valor de 39 UFC/placa/1h.

Monitoreo de superficies Método de contacto

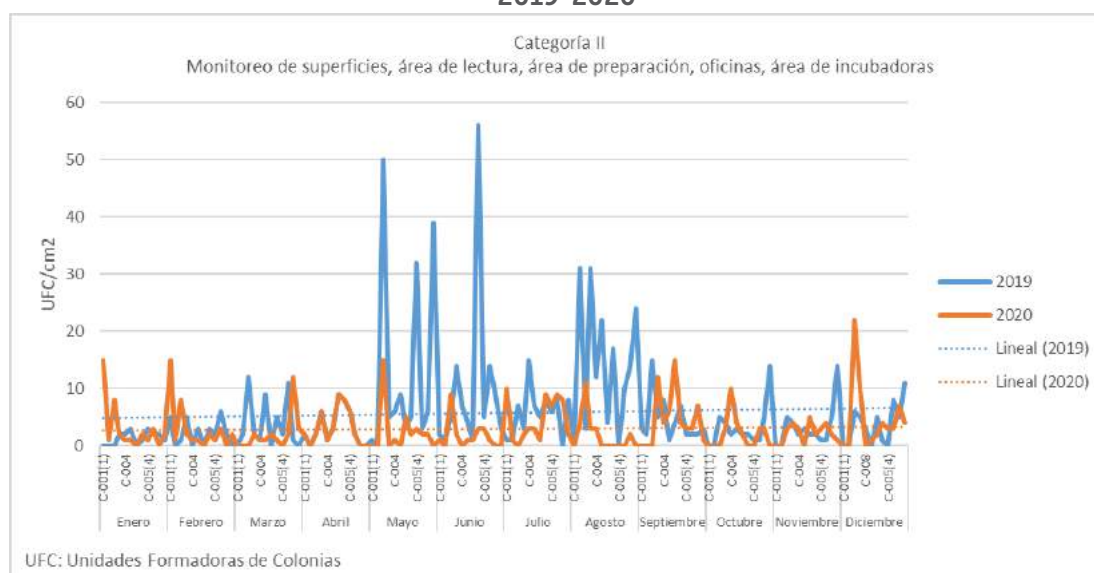
Gráfico 7. Resultados de monitoreo de superficies por método de contacto para la categoría I, año 2019-2020



Especificaciones de calidad: límite de alerta: 25 UFC/cm²; límite de acción: 50 UFC/cm²
Fuente: elaboración propia

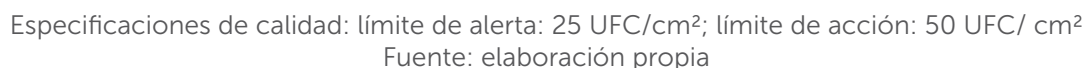
En los *gráficos 7, 8 y 9* se muestran los resultados por categoría. Los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría I, con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados se muestran en la *gráfica 7*. Durante 2019 se aprecia que en junio se excedió el nivel de alerta sin constituir un fuera de especificación para esta categoría con valores de 29 UFC/cm², para ambos casos y detectados en el *passtrough* del área de análisis de límites 1 y esclusa de potencias y manejo de cepas, mientras que en 2020, se aprecia una reducción en los recuentos obtenidos.

Gráfico 8. Resultados de monitoreo de superficies por método de contacto para la categoría II, año 2019-2020



Especificaciones de calidad: límite de alerta: 25 UFC/cm²; límite de acción: 50 UFC/cm²
Fuente: elaboración propia

Gráfico 9. Resultados de monitoreo de superficies por método de contacto para la categoría III, año 2019-2020



Se muestran los resultados generados del monitoreo ambiental en la categoría III con sus respectivas líneas de tendencia (línea punteada), para los años evaluados, ver *gráfica 9*. Se presentó en el año 2019 múltiples conteos que provocaron la superación de los niveles de alerta establecidos, con valores de 50 UFC/cm², en el área de lavado en febrero, 30 UFC/cm² en la bodega de muestras y 49 UFC/cm² en el área de lavado en mayo y finalmente, en junio en la esclusa gris hacia área general, se obtuvo un valor de 46 UFC/cm² y 33 UFC/cm² en el área de lavado teniendo, para 2020 una reducción en la incidencia de estos eventos. de 39 UFC/placa/1h.

Identificación de contaminantes

Durante los hallazgos detectados en 2019 y 2020, se encontraron múltiples contaminantes de los cuales se hizo una investigación para identificar aquellos casos en los que la carga microbiana superara el nivel de aceptabilidad designado para el área en evaluación. Los resultados de las identificaciones se presentan en la *tabla 6*

Tabla 6. Microorganismos identificados en casos fuera de especificación

Nombre de la ubicación	Código asignado	Método	Año	Microorganismo identificado	Pureza
Pasillo general del laboratorio	C-018(1)	Activo, MAS-100	2020	<i>Bacillus lentus</i>	99.04%
Pasillo frente a cuartos de análisis	C-024	Activo, MAS-100	2020	<i>Bacillus licheniformis</i>	87.98%
Área de incubadoras	C-001	Activo, MAS-100	2020	<i>Bacillus laevolacticus</i>	99.96%
Área de recepción de muestras	C-002	Activo, MAS-100	2020	<i>Bacillus licheniformis</i>	99.97%
Esclusa gris hacia área general	C-015	Activo, MAS-100	2019	<i>Bacillus licheniformis</i>	98.82%
Esclusa gris hacia área general	C-015	Activo, MAS-100	2019	<i>Bacillus lentus</i>	93.24%
Esclusa gris hacia área general	C-015	Activo, MAS-100	2020	<i>Bacillus circulans</i>	99.56%

Fuente: elaboración propia

A partir de los resultados reflejados en la *tabla 6*, se puede observar que el contaminante más frecuente en el laboratorio de microbiología es el *Bacillus licheniformis*, con una prevalencia del 43% sobre los demás contaminantes.

Discusión

Los datos recopilados durante los años de estudio son importantes para la toma de decisiones inmediatas, al presentarse eventos adversos como aquellos relacionados a los datos fuera de especificación en ambientes controlados, que puedan afectar la biocarga natural de una actividad productiva o analítica. El análisis de tendencia es una herramienta fundamental en la proyección a futuro de las organizaciones, ya que permite orientar esfuerzos de manera más eficiente, donde son necesarios como la capacitación del personal, revisión de procedimientos, compra de nuevos insumos y rutinas de mantenimiento de equipos que componen sistemas críticos. La información brindada por un muestreo de aire activo, sirve principalmente para identificar la eficiencia y el buen estado de los elementos que componen el sistema de aire HVAC. A su vez, la identificación de la población bacteriana permite reducir los tiempos de respuesta frente a sucesos indeseados, ya que facilita la evaluación de riesgos.

Como se puede apreciar en los gráficos mostrados entre 2019 y 2020, hubo una mejora en la eficiencia del sistema en los primeros meses de 2020, debido al aumento en la frecuencia de mantenimientos preventivos y tiempos de cambios de filtros en las etapas de alimentación del sistema, realizados en enero de 2020. Sin embargo, se presentan anomalías en agosto y octubre de 2020, que son de especial interés debido a que estos datos hacen que la tendencia obtenida para dicho año aumente con respecto a 2019.

En resumen, para 2020 las condiciones de laboratorio tuvieron un deterioro con respecto al año anterior. En casos así es necesario, al finalizar el estudio, determinar la causa raíz que pudo haber provocado dicho fenómeno, con el objetivo final de prevenirlos en el futuro fuera de especificación. Dicho análisis fue realizado por una comisión interdisciplinaria del laboratorio y concluyó que, la causa raíz fue la disrupción en las cadenas de suministro, que impactó en la frecuencia de mantenimientos y de rutinas de trabajo del personal, provocado por la pandemia de COVID-19 y que tuvo un impacto en el desempeño final del sistema aire y de la limpieza general del laboratorio.

Los datos recopilados por el método de muestreo pasivo es el reflejo de la conducción del personal en las áreas de ambiente controlado, esto es debido a que es un método que depende del tiempo y las corrientes de aire presentes en el sitio de muestreo, y se ve más influenciada por el arrastre de contaminantes, debido al desplazamiento de personal y transporte de materiales por la eficiencia del sistema de aire.

Al analizar las tendencias obtenidas en las tres categorías, se observó que existió una tendencia a la baja en 2020 con respecto a 2019, la razón es que durante el 2020 hubo una mayor sensibilización del personal hacia las rutinas de limpieza y conducción en los ambientes controlados, combinados con la concientización causada por la pandemia de COVID-19, que fomentó y afianzó estas prácticas entre el personal.

Los resultados obtenidos por el método de contacto en el monitoreo de superficies, reflejan la correcta ejecución de los procedimientos de limpieza y desinfección, así como la efectividad de los agentes químicos empleados (glutaraldehído, ácido peracético al 3%, hipoclorito de sodio al 1%, alcohol etílico al 70% e isopropílico al 70%). En los resultados obtenidos se observó en 2020, un comportamiento de la tendencia a la baja con respecto a 2019; esto coincide con las campañas de concientización y

sensibilización del personal, así como con un aumento en la frecuencia de la limpieza y desinfección, en el marco del desarrollo de la pandemia de COVID-19.

Las limitaciones presentadas en el estudio fueron: la falta de incorporación de datos de cuantificación de partículas no viables que habría brindado una información adicional, para apoyar las investigaciones de falla, durante los eventos de fuera de especificación. El estudio contó con la ventaja de ser económicamente viable ya que los insumos, consumibles y equipos requeridos, son de fácil adquisición, por lo que es viable la réplica en diferentes condiciones.

Conclusión

En el laboratorio de microbiología de la Dirección Nacional de Medicamentos la pandemia de COVID-19, se tradujo en una mejora en la rigurosidad con el que se condujo el personal dentro de los ambientes controlados, y un aumento de las rutinas de limpieza y desinfección, pero también tuvo un efecto negativo en el estatus de los elementos que componen los sistemas críticos. Para el estudio en cuestión, afectó la adquisición de repuestos y mantenimiento en las fechas programadas, lo que provocó un cambio en la tendencia para las evaluaciones ambientales por método activo.

En futuros estudios es recomendable ampliar el periodo en el que se realiza el análisis e incorporar la evaluación de áreas estériles, incluyendo la cuantificación de mohos y levaduras, además de los resultados de cuantificación de partículas no viables, ya que es un parámetro más estricto y susceptible a cambios ocasionados por la conducción del personal y el transporte de materiales.

Referencias bibliográficas

1. Casares y Cabo (2018). análisis de tendencias de variables indicadoras de calidad de agua para riachuelo (Cuenca Matanza-Riachuelo, Argentina). Revista internacional de contaminación ambiental. vol.34 no.4. <https://doi.org/10.20937/rica.2018.34.04.08>
2. Cobb, J. (2020). An innovative Active Air

Sampler for continuous viable air monitoring with minimal plate changes. *Clean Air and Containment Review*, 16–21.

3.Farmacopea de los Estados Unidos de América [USP],2022. CONTROL MICROBIOLÓGICO Y MONITOREO DE AMBIENTES DE PROCESAMIENTO ASÉPTICO, 1116.

4.Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos [FEUM] (2018). Control ambiental: control de aire ambiental 721-729.

5.Institución Administrativa Independiente Agencia de Cooperación Internacional del Japón [JICA] (2010). Lineamientos para las Consideraciones Ambientales y Sociales de la JICA. https://www.jica.go.jp/english/our_work/social_environmental/archive/reviews/j1v953000000ri77-att/guideline_spanish.pdf

6.ISO (2001). Salas limpias y locales anexos controlados: Diseño, construcción y puesta en servicio. ISO 14664-4:2001.

7.ISO (2005). Salas limpias y locales anexos controlados: Dispositivos de separación (campanas de aire limpio, cajas de guantes, aisladores, minientornos). ISO 14664-7:2004.

8.ISO (2005). Salas limpias y locales anexos controlados: Funcionamiento. ISO 14664-5:2004.

9.ISO (2014). Salas limpias y locales anexos controlados: Clasificación de la limpieza de aire por concentración química. ISO 14664-8:2013.

10.ISO (2014). Salas limpias y locales anexos controlados: Clasificación de la limpieza de superficies mediante la concentración de partículas. ISO 14664-9:2012.

11.ISO (2014). Salas limpias y locales anexos controlados: Clasificación de la limpieza de superficies por concentración química. ISO 14664-10:2013.

12.ISO (2016). Salas limpias y locales anexos controlados: Seguimiento para proporcionar evidencias del desempeño en relación con la limpieza de aire mediante la concentración de partículas. ISO 14664-2:2015.

13.ISO (2017). Salas limpias y locales anexos controlados: Evaluación de la idoneidad para la utilización de equipo por concentración de partículas en suspensión del aire. ISO 14664-14:2016.

14. ISO (2018). Salas limpias y locales anexos controlados: Evaluación de la idoneidad para

la utilización de equipos y materiales por concentración química del aire. ISO 14664-15:2017.

15.ISO (2018). Salas limpias y locales anexos controlados: Limpieza de superficies para alcanzar niveles definidos de limpieza en términos de clasificaciones de partículas y químicos. ISO 14664-13:2017.

16.ISO (2020). Salas limpias y locales anexos controlados: Aplicaciones de la tasa de deposición de partículas. ISO 14664-16:2019.

17.ISO (2020). Salas limpias y locales anexos controlados: Eficiencia energética en salas limpias y dispositivos separadas. ISO 14664-16:2019.

18 ISO (2020). Salas limpias y locales anexos controlados: Métodos de ensayo. ISO 14664-3:2019.

19.Microgen Bioproducts Ltd (2009). Microgen Bacillus ID instructions for use. <https://www.kemitekskimya.com.tr/files/101216e95e4702.pdf>

20.Minnesota Mining and Manufacturing Company [3M](2019). Environmental Monitoring Handbook Manual de Monitoreo ambiental para las industrias de alimentos y bebidas 1st Edition, <https://multimedia.3m.com/mws/media/1865466O/3m-fsd-environmental-monitoring-handbook-spanish-latam.pdf>.

21.Mohammed Seif El-Din Ashour, Moselhy Salah Mansy y Mostafa Essam Eissa (2011). Pharmaceutical plant environmental monitoring, *Microbiological Environmental Monitoring in Pharmaceutical Facility*, 66-71. <https://doi.org/10.21608/eajbsg.2011.16696>

22.Organización Internacional de Normalización [ISO] (2016). Salas limpias y locales anexos controlados: Clasificación de la limpieza del aire mediante la concentración de partículas. ISO 14664-1:2015.

23.Organización Mundial para la Salud [OMS] (2010): Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de control de calidad de productos farmacéuticos.

24.Terra Anne Kremer, R. P. (2019, junio). Correlation between Environmental Monitoring and Product Bioburden. *Biomedical Instrumentation & Technology*, 32–37.