



Control microbiológico del aire farmacéutico en planta piloto universitaria

B. Ynoa Pérez, G. Brahimsalem Larosi, X. Huélamo Muñoz, M.J. Alonso, I. Madrid Hidalgo, E. García Montoya

Universidad de Barcelona - Farmatec



Dada la gran importancia de la calidad del aire en la producción de medicamentos y productos biosanitarios, se deben cumplir las normas y protocolos que aseguren su calidad microbiológica. Este trabajo se enfoca en las acciones llevadas a cabo en una planta piloto universitaria de producción de medicamentos experimentales.

PALABRAS CLAVE: Cualificación de instalaciones y equipos; Buenas Prácticas de Correcta Fabricación; Análisis de riesgo; Calidad microbiológica.

Given the significant role of air quality in the production of medicines and bio sanitary products, to ensure the microbiological requirement, both standards and protocols should be implemented. This paper focuses on the actions carried out in a university pilot plant for the production of experimental medicines.

KEYWORDS: Installation and Equipment qualification; Good Manufacturing Practices; Risk analysis; Microbiological Quality.

INTRODUCCIÓN

La contaminación siempre ha sido uno de los problemas a la hora de mantener los estándares y parámetros de calidad en la elaboración de productos sanitarios, cosméticos o medicamentos. Según De La Rosa, Ullán, Prieto y Mosso (2000), en el aire se encuentra una serie de microorganismos suspendidos, de los cuales se pueden destacar bacterias y hongos. La presencia de uno u otro tipo depende del origen (suelo, agua y seres vivos) y de su supervivencia [1].

Así mismo se ha demostrado que la cantidad de microorganismos en el aire puede verse influenciada por los cambios estacionales durante el año, entre otros factores. De La Rosa et al. (2002) plantea que su crecimiento depende del umbral de tolerancia a circunstancias como la humedad relativa del aire y la temperatura [2].

El propósito de esta publicación es determinar el cumplimiento de los requisitos de calidad microbiológica del aire para las salas de fabricación de cosméticos líquidos.

UB-Farmatec es una planta para la fabricación de medicamentos en investigación para ensayos clínicos y producciones de tamaño de lote menor a 10kg-50L, autorizada para la elaboración de cosméticos líquidos desde 2022 [3].

UB-Farmatec completa la oferta de servicios que, desde 1996, viene desarrollando el "Servei de Desenvolupament del Medicament" (SDM), del Departamento de Tecnología Farmacéutica, y Físicoquímica, de la Facultad de Farmacia y Ciencias de la

Alimentación, de la Universidad de Barcelona, en el diseño y desarrollo galénico para el sector salud. [3]

Este artículo explica los procedimientos metodológicos desarrollados durante el proceso de control de la calidad del aire que se desarrolla en siete etapas:

1. Adopción de sistemas de monitorización y control de parámetros ambientales (Sistema SCADA) que permite monitorizar y controlar la temperatura, y la humedad de las diferentes salas y las presiones diferenciales de aire entre las salas.

El Sistema SCADA debe estar validado ya que esta es la única forma que da veracidad a los datos registrados de las salas, en este caso la temperatura, la presión y la humedad, en las salas que aplica.

Por esta razón se consideran críticos diversos aspectos para asegurar la integridad de los datos que después se utilizarán respecto al estado de las salas:

- En primer lugar, el hardware que controla el sistema SCADA debe estar en un lugar con control de acceso físico, tanto los captadores de las señales como el ordenador que recoge dichas señales y los almacena.

- El acceso al programa informático debe estar controlado y siempre será con identificación personal, ya que gracias al sistema AUDIT TRAIL, todos los accesos al sistema quedan registrados y podrán ser trazados.

- Así mismo se definen distintos roles dentro del sistema, desde el perfil sólo visualizador, operador y administrador, donde éste último siempre recae en el responsable del departamento IT.

- Otro parámetro crítico es que ningún usuario pueda alterar ni fecha ni hora del ordenador que recoge los datos, ni manipular los propios datos recogidos y almacenados ya en la base de datos del sistema SCADA. Este es un punto clave en la validación del sistema y debe demostrarse que no se pueden alterar en ningún perfil de usuario.

- También se considera como parámetro crítico el disponer de hardware informático de reserva en caso de avería del sistema, ya que se dejarían de tomar datos del estado de las salas, y de disponer de un sistema de copias de seguridad continuas para asegurar la integridad y recuperación de la base de datos del sistema SCADA en caso de desastre.

2. Formación previa del personal, en la utilización de los equipos y el cumplimiento de los procesos.

3. Análisis de riesgos para identificar posibles contingencias y determinar las acciones a realizar.

4. Estudio de distribución de temperatura de las estufas para estabilizar y homogeneizar la temperatura para la incubación de las muestras.

5. Realización de muestreos estáticos y dinámicos de las instalaciones.

6. Recuentos microbianos de las placas y dictamen posterior.

7. Histórico de datos.

METODOLOGÍA

Se considera al aire como un servicio crítico, por tanto, su calidad debe estar garantizada mediante los controles que permitan evitar o minimizar su contaminación microbiana. La planta piloto UB-Farmatec se ha diseñado para cumplir con los requisitos para clase D.

En UB-Farmatec los siguientes parámetros se controlan por el sistema SCADA, que los registra cada diez minutos:

- Para optimizar el consumo energético, las condiciones de temperatura interior (20-25°C) se regulan de acuerdo a dos situaciones climáticas externas: verano e invierno.

- El porcentaje de humedad relativa, en las salas que aplica, HR % (30-50 %).

- La presión ($\Delta 5$ Pa entre salas).

Para clase D [4], el requerimiento de calidad microbiológica que se requiere es:

- <200 UFC/m³ en el muestreo dinámico realizado con muestreador de aire.

- <100 UFC/placa de 90 mm de diámetro en el muestreo por sedimentación (4h).

MATERIALES Y MÉTODOS

Los factores previos importantes a tener en cuenta en esta cualificación:

- Calibración de las sondas de temperatura, humedad y presión de las salas.

- Revisión de la integridad y la calidad de los filtros de las salas y de los UTAS.

- Ajuste de la cascada de presiones entre salas para que las barreras que evitan la contaminación cruzada sean efectivas.

FORMACIÓN INICIAL DEL PERSONAL PARA MUESTREOS

Previo a la realización del muestreo, y de acuerdo con el sistema de calidad implantado, se debe realizar la lectura comprensiva de los procedimientos e informes relacionados. Además, la formación se completa con el visionado de un material gráfico (Figura 1), especialmente diseñado por la persona

FIGURA 1. Material gráfico (vídeo) utilizado en la formación del personal para el proceso de muestreo



experta en microbiología. El personal seleccionado para ejecutar el proceso de muestreo deberá estar correctamente formado y registrado según el PNT de formación de equipos de UB-Farmatec. Se realizaron varias sesiones prácticas de entrenamiento, hasta conseguir la cualificación prevista.

ANÁLISIS DE RIESGOS

En la ejecución del muestreo se tomó como punto de partida el documento de Evaluación de riesgos de la instalación de fabricación UB-Farmatec, y el Plan de Muestreo (2020), para determinar el número de placas a utilizar y su ubicación en cada sala, en función de la evaluación realizada.

Los tres factores analizados fueron:

- La severidad para verificar el impacto de la contaminación en el producto.
- La probabilidad de que aparezca crecimiento microbiológico debido a los fallos o funcionamiento incorrecto del sistema HVAC y/o mantenimiento de la cascada de presiones.
- La detectabilidad o facilidad de ver los fallos o si existen sistemas vigia.

Las valoraciones se realizaron durante la tercera etapa de cualificación (PQ) mediante la monitorización microbiológica diaria de las salas y demás sistemas integrados, asegurando

las condiciones del diseño y funcionamiento del sistema. Asimismo, se consideraron características estructurales de las salas: tamaño, número de impulsores de aire, exposición del producto al ambiente, interrupciones de flujo de aire, y la localización del retorno de aire en el techo sin exposición del producto.

MÉTODO DE MUESTREO Y CONTROL MICROBIOLÓGICO

Previo al proceso de muestreo, se preparan y controlan las placas necesarias para la toma de muestras en las diferentes áreas de la planta. Se trata de placas estándar de 90 mm de diámetro que, tras un período de incubación, sirven también para el recuento de microorganismos, al contener medio de cultivo nutritivo TSA.

Las placas se usarán, tanto para el control estático como para el control dinámico, en las 21 salas de la planta susceptibles de este tipo de controles (Figura 2).

Se define como control estático el que permite el recuento de organismos viables presentes en el aire, sobre unas superficies establecidas y en zonas próximas a rejillas de ventilación de los retornos de aire. Para su diferenciación, las placas estarán representadas por una letra S (para las de sedimentación sobre superficie) y Sr (para las placas a ubicar en los retornos). También se les asigna un número en caso de tener que colocar más de una placa en una sala, acorde al plan de muestreo; la fecha de muestreo y el código de la sala (Figura 3).

En el control estático, previo al proceso de muestreo, se procede a montar unas estructuras elevadas utilizadas para dejar las placas del muestreo y aproximarlas a los retornos de cada sala (Figura 4). Posteriormente, se desinfectan las superficies y se colocan las placas, en los puntos señalados en el plano de distribución de la planta (Figura 2). Por último, se retira con cuidado las tapas para exponer el medio de cultivo al aire y el técnico, evitando provocar corrientes de aire,

FIGURA 2. Plano de distribución de las salas para la localización de placas de monitorización ambiental. Detalle

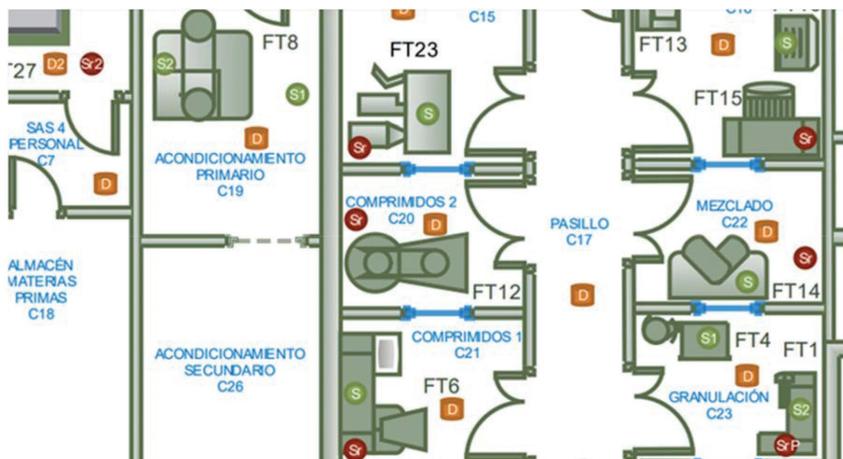


FIGURA 3. Plantilla de muestreo. Se utiliza la plantilla de registro para indicar la codificación de cada muestra

Registro de muestreo para el control del aire dinámico y estático de las siguientes salas de UB-Farmatec:
imp38703

Día:		Hora (en la casilla, junto al 1)			Firma (turno de mañana):			Firma (turno de tarde):					
orden del recorrido	sala	Control Dinámico			placas /sala	Control Estático en retorno			Control sobre el equipo o según plano			placas /sala	
		D	D1	D2		Sr	Sr1	Sr2	S	S1	S2		S3
1	Líquidos C11				1							2	
2	S-Sólidos C4				1							3	
3	Limpieza C2				1							0	
4	Multifunc C1				1							2	
5	Alm Intern C12				1							1	
6	SAS 2 C14				1							0	
7	Pesadas C13				2							5	
8	Sas 5 C24				1							0	
9	Sas 4 C7				1							0	
10	Acond 1º C19				1							3	
11	pasillo ext C6				1							0	
12	Sas 3 C9				1							0	
13	pasillo int C17				1							1	
14	cápsulas C15				1							2	
15	Compr 2 C20				1							1	
16	Compr 1 C21				1							2	
17	Recubr C27				1							2	
18	Lecho FI C28				1							4	
19	Granulac C23				1							3	
20	Mezclado C22				1							2	
21	DesecTam C16				1							2	
		20	1	1	22	12	2	2	8	5	5	1	35
	risc alt 13		22	diarias			16		35	diarias	19		
	risc mitg 4		5						5				
	risc baix 4		110	semanal					175	semanal			
						285	total placas						

imp38703 Vigente desde OCTUBRE 2020 Observacions al darrera

PAGINA DE PUBLICIDAD

abandonará la sala durante 4 horas. En el exterior de ésta, se registra la hora en la plantilla de muestreo (Figura 3) y pasado el tiempo de muestreo se vuelven a cerrar las placas, se recogen todas y se trasladan para su incubación.

Para la realización del control dinámico se utiliza el equipo muestreador MAS-100 VF® de Merck que toma 1000L de aire, durante diez minutos,

FIGURA 4. Estructura para alzar las placas de sedimentación en los retornos



FIGURA 5. Carro utilizado para el muestreo dinámico y muestreado



en cada punto asignado en el plan de muestreo de cada sala. Las placas se identifican con una D. El dispositivo se inserta en un trípode y se coloca sobre un carro de acero inoxidable junto con todo el material necesario para el muestreo: placas, guantes, tí-súes desechables e IPA para la desinfección, tanto del muestreador como del carro, antes y después de su uso en las salas (Figura 5).

El proceso de muestreo comienza con la ubicación del carro en lugares específicos señalados en el plano de la planta (Figura 2) cercanos al difusor principal del aire, a unos 120 cm del suelo. Se toma la muestra de aire en una sala concreta siguiendo el protocolo de muestreo y PNT del aparato y, una vez obtenida la muestra, se cierra la placa, se realizan las anotaciones pertinentes y se pasa a la siguiente sala. Tras finalizar el recorrido pro-

puesto se transportan todas las placas a incubar.

El muestreo se realizó durante 5 días consecutivos, en turnos de mañana y tarde.

El recuento de las placas del control estático se expresa como unidades formadoras de colonias (UFC) durante un período de cuatro horas, mientras que en las placas del control dinámico se expresa como UFC/m³ tras aplicar el factor de conversión de Feller para muestreadores con cabezal perforado (Figura 6).

En caso de cualquier crecimiento, deberá consultarse la tabla de conversión de Feller para informar del resultado cuantitativo. Es un método de corrección estadística basado en el principio de que, a mayor cantidad de microorganismos en cada toma de muestras, aumenta la probabilidad de que hayan penetrado varios de

Se ha demostrado que la cantidad de microorganismos en el aire puede verse influenciada por los cambios estacionales durante el año, entre otros factores

FIGURA 6. Cabezal perforado del muestreador (izquierda) y muescas, generadas por el impacto del aire, sobre el agar



PAGINA DE PUBLICIDAD

Se considera al aire como un servicio crítico, por tanto, su calidad debe estar garantizada mediante los controles que permitan evitar o minimizar su contaminación microbiana

ellos por el mismo orificio del cabezal del muestreador de impacto. La cifra de recuento de microorganismos (r) se corrige aplicando la siguiente fórmula en la que está basada la tabla de conversión [5]:

$$Pr = N \cdot \ln [(N+0,5) / (N-r+0,5)]$$

Donde:

- N es el número de orificios de la tapa del muestreador.
- r es el número de unidades formadoras de colonia (UFC).
- Pr es el número probable total de UFC.

Antes de realizar los análisis deben de establecerse los diferentes criterios entre los que se encuentran el método de muestreo, los microorganismos que se desean aislar y cuantificar, así como los lugares de muestreo. También es importante determinar el número de muestras en cada sala, así como la frecuencia de los muestreos. No obstante, todos estos puntos a tener en cuenta dependen, en cierta medida, de las características específicas del ambiente a analizar. A partir de ahí, y teniendo en cuenta los procedimientos de muestreo utilizados, se pueden conseguir datos estadísticos [6].

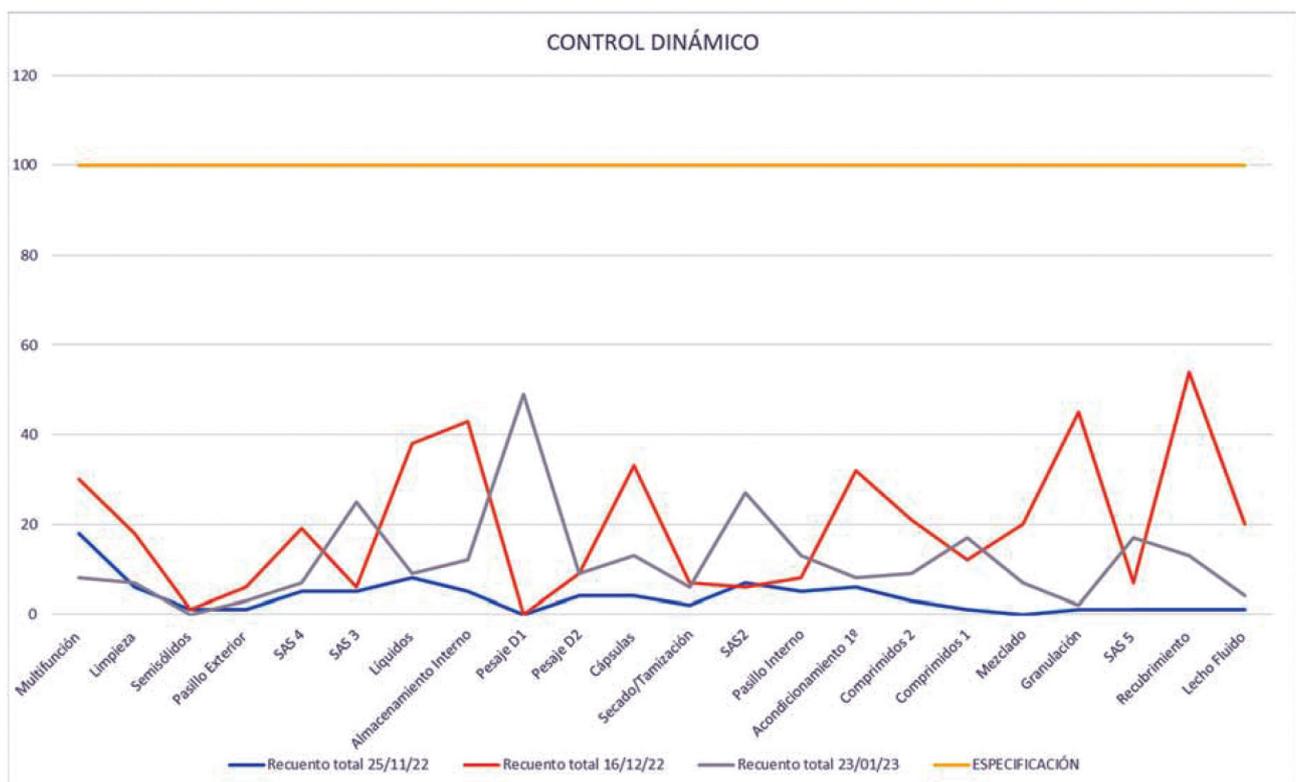
RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las estufas se cualificaron, previamente al proceso de muestreo e incubación de placas, en base al resultado de los mapeos térmicos realizados. En un impreso definido se indicaron las muestras tomadas, los tiempos, las incidencias, los códigos de las placas, y las temperaturas de las salas en el momento de la toma de muestras, lo cual permite la trazabilidad de los datos (Figura 3).

Los resultados obtenidos del control dinámico (Figura 7) permitieron determinar que todas las muestras cumplieron con la especificación de <200 UFC/m³ por placa para salas de clase D.

Del mismo modo los resultados del control estático permitieron comprobar que todas las muestras cumplieron con las especificaciones de <100 UFC/placa (Figura 8). En el control estático aparecieron menos placas con crecimientos por hongos que, en el dinámico, lo cual es normal, ya que

FIGURA 7. Resultados obtenidos del control dinámico realizado con frecuencia mensual y gráfico donde se muestran todas las salas muestreadas



PAGINA DE PUBLICIDAD

TABLA 1. 

SALA	Recuento total 25/11/22	Recuento total 16/12/22	Recuento total 23/01/23	Especificación
Multifunción	18	30	8	200
Limpieza	6	18	7	200
Semisólidos	1	1	0	200
Pasillo Exterior	1	6	3	200
SAS 4	5	19	7	200
SAS 3	5	6	25	200
Líquidos	8	38	9	200
Almacenamiento Interno	5	43	12	200
Pesaje D1	0	0	49	200
Pesaje D2	4	9	9	200
Cápsulas	4	33	13	200
Secado / Tamización	2	7	6	200
SAS2	7	6	27	200
Pasillo Interno	5	8	13	200
Acondicionamiento 1º	6	32	8	200
Comprimidos 2	3	21	9	200
Comprimidos 1	1	12	17	200
Mezclado	0	20	7	200
Granulación	1	45	2	200
SAS 5	1	7	17	200
Recubrimiento	1	54	13	200
Lecho Fluido	1	20	4	200

en el dinámico el equipo fuerza a pasar un gran volumen de aire, mientras que en el estático los microorganismos se sedimentan por gravedad.

Para mantener los resultados obtenidos, se define la frecuencia de muestreo siguiente:

- Muestreo dinámico con frecuencia mensual (Figura 7, datos compilados hasta el momento).
- Muestreo estático con frecuencia trimestral (Figura 8, datos compilados hasta el momento).

De forma adicional y debido a la particularidad en el uso de la planta piloto, se establece que, de forma previa al inicio de cualquier fabricación, se monitorizarán los parámetros físicos en el programa SCADA, cuyo resultado se documentará en las guías de fabricación, previo al inicio de las mismas.

En base a los resultados obtenidos se concluye que el sistema de tratamiento de aire para asegurar la clasificación, clase D, de las salas de la planta piloto es adecuado y, por tanto, se ha cualificado.

FIGURA 8.  Tabla de resultados obtenidos del control estático y gráfico de las salas muestreadas



TABLA 2 						
SALA	Sr1	Sr 2	S1	S2	S3	Especificación
Multifunción	2	N.A	2	N.A	N.A	100
Limpieza	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Semisólidos	2	N.A	0	0		100
Pasillo Exterior	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	100
SAS 4	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	100
SAS 3	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Líquidos	5	N.A	1	N.A	N.A	100
Almacenamiento Interno	5	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Pesaje	2	6	1	0	0	100
Cápsulas	1	N.A	3	N.A	N.A	100
Secado/Tamización	2	N.A	3	N.A	N.A	100
SAS2	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Pasillo Interno	3	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Acondicionamiento 1º	2	N.A	1	1	N.A	100
Comprimidos 2	0	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Comprimidos 1	3	N.A	0	N.A	N.A	100
Mezclado	5	N.A	0	N.A	N.A	100
Granulación	6	N.A	3	0	N.A	100
SAS 5	N.A	N.A	N.A	N.A	N.A	100
Recubrimiento	3	N.A	1	N.A	N.A	100
Lecho Fluido	0	2	0	3	N.A	100

Abreviaturas

GMPs: Good Manufacturing Practices

°C: Grados Celsius

Pa: Unidad de medida de presión, pascales

SCADA: Supervisión, Control y Adquisición de Datos

EN: Normativa Europea

ISO: International Organization for Standardization

UFC: Unidad Formadora de Colonias

m³: Metros cúbicos

mm: Milímetros

UTA: Unidad de Tratamiento del Aire

PNT_s: Procedimientos Normalizado de Trabajo

HVAC: Heating, Ventilation, Air Conditioning

PQ: Performance Qualification

m²: Metros cuadrados

TSA: Tryptone Soy Agar

IPA: Isopropyl Alcohol

NMP: Número Más Probable

Pr: Número Probable Total de UFC

r: Recuento de colonias

FIGURA 9. Ejemplos de placas procesadas: identificación, marcas de muestreo y resultados tras incubación



Referencias bibliográficas

[1] De La Rosa, M., Ullán, C., Prieto, M., y Mosso, M. (2000). Calidad microbiológica del aire de una zona limpia en una industria farmacéutica. *Anales de la Real Academia de Farmacia*, 66, p. 13. Consultado el 2 de enero de 2023 https://analesranf.com/wp-content/uploads/2000/66_02/6602_06.pdf

[2] Rosa, M.C., Mosso, M., & Ullán, C. (2002). El aire: hábitat y medio de transmisión de microorganismos. *Departamento de Microbiología II. Facultad de Farmacia. UCM*. p. 385. Consultado el 20 de febrero de 2023. <https://revistas.ucm.es/index.php/OBMD/article/view/OBMD0202110375A>

[3] Servei de Desenvolupament del Medicament (SDM). *Desenvolupament, Recerca, Registres i Planta Pilot de Tecnologia Farmaceutica*. Consultado el 2 de enero de 2023. http://www.ub.edu/sdm/cat_1_qui.htm

[4] Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios. *Guía de Normas de Correcta Fabricación de Medicamentos de Uso Humano y Veterinario (2003). Anexo I, Fabricación de medicamentos estériles*. Consultado el 2 de enero de 2023. https://www.aemps.gob.es/industria/inspeccionNCF/guiaNCF/docs/anejos/14_anexo-1.pdf?x42382

[5] Egea, P., Rodríguez, V., Ruiz, P., Roiz, M.P. *Control microbiológico ambiental de salas blan-*

cas (células humanas, productos farmacéuticos, reproducción asistida). (2021) Consultado el 20 de febrero de 2023. <https://seimc.org/documentoscientificos/procedimientosmicrobiologia/seimc-procedimiento74.pdf>

[6] Canet, J. (2016). Control de la contaminación ambiental en industrias alimentarias y farmacéuticas. Consultado el 2 de enero de 2023. <https://www.betelgeux.es/blog/2016/06/17/control-de-la-contaminacion-ambiental-en-industrias-alimentarias-y-farmacuticas/>

Agradecimientos

A la Dra. Encarnación García Montoya por inspirarme a escribir nuevamente, por ser guía en la ejecución del artículo y hacerlo posible mediante su disposición y solidaridad. Por siempre apoyarme.

A María José Martínez Viñas por su dedicación y contribución en el engranaje de este artículo, por haberme instruido y guiado con sus conocimientos en microbiología, y haber aportado las herramientas necesarias para la obtención de resultados como parte integral de este proyecto.

A María Jesús Alonso por el tiempo invertido y converger con mis ideas, Ignasi Madrid Hidalgo, Glana Brahinsalem Larosi, Xavier Huélamo Muñoz y Natalia Franco Polanco por examinar, aclarar y sintetizar cada palabra de manera precisa y plasmar sus ideas en mí. 