Tecnología Química
e-ISSN: 2224-6185, vol. (39), No. (1), (2019)

Artículo original

Llenado Aséptico de diagnosticadores en las Plantas de Productos Parenterales del Centro Nacional de Biopreparados

Aseptic filling of diagnosticators in the Parenteral Products Plants at National Center for Bioproducts

MSc. Marisol Alvarez González[1]*
Dr. Orestes Mayo Abad[2]
MSc. Zenaida Paz Pérez[1]
Lic. Juan Carlos Pérez Duque[1]
Lic. Alberto Varela Llanes[1]

[1] Centro Nacional de Biopreparados. La Habana. Cuba
[2]Universidad Tecnológica de La Habana "José Antonio Echeverría", Cuba

*Autor para la correspondencia. Correo:marisol.alvarez@biocen.cu

RESUMEN

El HemoCen Aerobio es un medio de cultivo de enriquecimiento general, destinado al cultivo de microorganismos aerobios en sangre. Debido a la importancia de este producto como diagnosticador de microorganismos que afectan la salud del hombre, se decide implementar la producción de sus tres presentaciones en las Plantas de Productos Parenterales del Centro Nacional de Biopreparados (BioCen). Por lo tanto, este trabajo se realiza con el objetivo de obtener la licencia de producción del Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Médicos (CECMED) para el HemoCen Aerobio Neonatal, HemoCen Aerobio Pediátrico y HemoCen Aerobio. Se muestran los resultados productivos de tres lotes de cada una de las presentaciones, los cuales muestran resultados satisfactorios y consistentes que cumplen con los requisitos de calidad según las especificaciones establecidas, con los que se obtuvo la

licencia de producción de las tres presentaciones en las Plantas de Productos Parenterales.
Palabras clave: HemoCen Aerobio; medio de cultivo; llenado aséptico.

ABSTRACT

The HemoCen Aerobio is a general enrichment culture medium, destined to culture aerobics microorganisms in blood. Due to the importance of this product as a diagnosticator of microorganisms that affect human health, it is decided to implement the production of its three presentations in the Parenteral Products Plants at National Center for Bioproducts (BioCen). Therefore, this work is carried out with the objective of obtaining the production license from the Center for the State´s Control of Medical Medicaments and Equipments (CECMED) for the HemoCen Aerobio Neonatal, the HemoCen Aerobio Pediátrico and the HemoCen Aerobio. Productive results of three lots of each one of the presentations are presented, which showed satisfactory and consistent results that fulfill the quality requirements according to the stablished specifications, that allowed to obtain the production license for the three presentations in the Parenteral Products Plants.
Keywords: HemoCen Aerobio; culture media; aseptic filling.

Recibido: 7/07/2018
Aceptado: 15/10/2018

Introducción

El HemoCen Aerobio es un medio de cultivo de enriquecimiento general. Ha sido diseñado para promover el metabolismo y desarrollo de las especies de microorganismos aerobios más exigentes a partir de muestras de sangre en un breve intervalo de tiempo. Este producto posee tres presentaciones: HemoCen Aerobio Neonatal, HemoCen Aerobio Pediátrico y HemoCen Aerobio los cuales constituyen respectivamente una herramienta valiosa, para la aplicación de una terapia antimicrobiana adecuada y oportuna en neonatos, niños y adultos ya que detecta la presencia de los principales microorganismos causantes de bacteriemias y fungimias.

Debido a los beneficios que ofrecen las tres presentaciones de HemoCen Aerobio y que garantizando su producción en una empresa nacional se logra disminuir las importaciones que realiza el país para este fin, se decide implementar la fabricación del HemoCen Aerobio Neonatal en la línea de llenado aséptico de 4 000 bulbos por hora (bb/h) de la Planta de Productos Parenterales 3 y sus otras dos presentaciones en la línea 7000 A (7 000 bb/h) de la Planta de Productos Parenterales 2 del Centro Nacional de Biopreparados (BioCen).

El producto formulado en bolsas, en la Planta de Medios de Cultivo, se traslada a las Plantas de Productos Parenterales. Antes de llevar a cabo el proceso de llenado aséptico, se le realiza una filtración esterilizante bajo Grado A en los locales de formulación e inmediatamente se traslada a las líneas de llenado.

La línea de 4 000 bulbos por hora, cuenta con una máquina lavadora de viales modelo FAW 1000, un túnel DHT 2545 que utiliza un flujo de aire unidireccional para esterilizar/despirogenizar y secar los viales y una máquina llenadora retapadora modelo KSF-1020 que dosifica la cantidad de producto a llenar en cada vial y realiza de forma automática el cierre y retape de cada uno de ellos. La línea de 7000 A presenta una capacidad de 7 000 bb/h, cuenta con una máquina lavadora de viales modelo FAW 1005, un túnel de esterilización-despirogenización DHT 2580 y una máquina llenadora selladora modelo FVF-5060. Esta máquina tiene un Sistema de Barrera de Acceso restringido (RABs) y un control automático de volumen donde el 100 por ciento de las unidades son controladas. Ambas líneas de llenado son de fabricación alemana de la firma Bausch & Ströbel.

Fundamentación Teórica

Composición y propiedades del HemoCen Aerobio

HemoCen Aerobio ha sido diseñado para promover el metabolismo y desarrollo de las especies de microorganismos aerobios más exigentes a partir de muestras de sangre. El medio de cultivo basa la promoción del crecimiento en la inclusión de los componentes del Caldo Triptona Soya, enriquecido con bases nutritivas, factores de crecimiento, vitaminas y otros componentes que satisfacen los requisitos nutricionales de bacterias y hongos. (1)

HemoCen Aerobio incluye factores de crecimiento para especies con requerimientos nutricionales especiales, tales como menadiona y hemina, requeridos para ciertas especies de *Bacteroides malaninogenicus* y la cisteína que, además de aportar

grupos tiol- para ciertos mutantes de *Streptococcus* spp., mantiene una tensión de oxígeno. La dextrosa es fuente fundamental de energía para el metabolismo. El contenido de cloruro de sodio coadyuva una adecuada presión osmótica y el fosfato dipotásico garantiza el valor adecuado del pH del medio que debe favorecer el crecimiento de las diferentes especies microbianas a detectar. El volumen de medio en los frascos y su relación con el volumen de muestra recomendado para cada grupo etario (adulto, pediátrico y neonato), posibilita atenuar el efecto inhibitorio de los antimicrobianos que pueden contener las muestras y evita la coagulación excesiva de la sangre. En la tabla 1 se presenta la composición del HemoCen Aerobio.[1]

Tabla 1- Composición del HemoCen Aerobio

Componentes	g/L
Hidrolizado enzimático de caseína	17
Peptona de soya	3
Peptona bacteriológica P	3
Extracto de levadura S	3
Peptona bacteriológica Z	3
Extracto vegetal	1
Dextrosa	3,5
Sacarosa	1
Cloruro de sodio	5
Fosfato dipotásico	2,5
Polianetol sulfonato de sodio	0,3
Hemina	10,0
L-cisteína clorhidrato	200
Menadiona	0,25
Agua	1000

pH 7,3 ± 0,2

Procesamiento Aséptico

Un área limpia o sala blanca es un área en la cual la concentración de partículas está controlada y que se construye y utiliza de forma tal que se minimice la introducción, generación y retención de partículas en su interior, en la cual otros parámetros relevantes, como la temperatura, humedad y presión pueden ser controlados.[2 , 4]

El procesamiento aséptico debe efectuarse en áreas limpias y cada paso del proceso debe estar muy bien controlado, fijando para cada uno requerimientos rigurosos de calidad. Es necesario cumplir, por tanto, con requisitos especiales, con vistas a minimizar los riesgos de contaminación microbiológica, de partículas y de endotoxinas. Las principales fuentes de contaminación en estos procesos son el aire, paredes, suelos, mesas, equipos y el personal. El objetivo del procesamiento aséptico es obtener productos estériles, es decir productos libres de microorganismos contaminantes viables.[2;3; 5; 8]

Para obtener la licencia de producción de un producto estéril es necesario demostrar el cumplimiento de la Buenas Prácticas de Fabricación (BPF), que el proceso se encuentre validado y obtener la consistencia de los lotes que participaron en el proceso de introducción. En el caso de estos productos por ser medios de cultivos enriquecidos no es necesario realizar la validación de sus procesos de producción.[2]

Materiales y Métodos

El HemoCen y el HemoCen Aerobio Pediátrico se formulan en bolsas plásticas STEDIM de una capacidad de 50L. Estas bolsas plásticas son liberadas según Certificado de Análisis del Fabricante e inspección de entrada realizada por las inspectoras de Aseguramiento de la Calidad de BioCen.

En el llenado aséptico de estos productos se utilizan los materiales de envase primario siguientes.

- ESP 2315 Bulbo 15R (HemoCen Aerobio Neonatal).
- ESP 21561 Bulbo 100mL (HemoCen Aerobio Pediátrico y HemoCen Aerobio)
- ESP 2059 Tapón de Clorobutilo gris de 20 mm.
- ESP 21162 Sello de aluminio natural y plástico Flip Off verde 20 mm.

Además, en la fabricación de estos productos es necesario utilizar: cajuelas metálicas, pinzas de acero inoxidable y paños estériles libres de partículas y emplear las metodologías descritas en los procedimientos establecidos para la operación de las líneas de llenado

Breve descripción de las áreas de producción

- **Área de Lavado, Esterilización y Despirogenización de bulbos**

Las máquinas lavadoras y el túnel de esterilización y despirogenización fueron construidas de acero inoxidable 316. Las mismas emplean un método combinado de limpieza de los bulbos con agua para inyección y aire comprimido de proceso. Los agentes limpiadores son suministrados a través de mangueras y agujas a una presión de 300 kPa hacia el interior de los bulbos, los mismos son filtrados a la entrada de la máquina a través de filtros Sartorius Sartobran pH de 0,45- 0,2 µm para el agua y Sartofluor 0,2 µm para el aire. Los bulbos son transportados a través de guías conductoras hacia el túnel de esterilización y despirogenización, donde son despirogenizados por calor seco por medio de resistencias eléctricas. Los bulbos

realizan el recorrido por el túnel a través de esteras transportadoras, pasando por tres zonas: Zona de precalentamiento, zona de esterilización - despirogenización y zona de enfriamiento. La zona de precalentamiento emplea aire que se calienta por radiación en la zona de esterilización y permite que los bulbos sean calentados hasta 80 ˚C. La zona de esterilización - despirogenización permite que los bulbos alcancen una temperatura entre 310 y 345 ˚C, siendo la temperatura recomendada 320 ˚C. Esto se logra empleando tres bancos de resistencias eléctricas. La zona de enfriamiento cuenta con un ventilador, donde el aire frío es tomado de la parte superior del túnel, pasando a través de un filtro de particulado de alta eficiencia (HEPA). En esta zona los bulbos disminuyen su temperatura hasta 35 ˚C. En esta área se realizan controles químicos y microbiológicos a las aguas que intervienen en el proceso de lavado, además se realizan controles ambientales del área durante cada proceso.[6;7]

Área de Llenado Aséptico

La operación de llenado aséptico se realiza bajo flujo laminar grado A y un entorno grado B.

La máquina llenadora de 4 000 bb/h posee las estaciones siguientes:

- Estación de dosificación: utiliza un sistema de dosificación formado por cilindro + pistón rotatorio y un ajuste de volumen que se realiza de forma manual.
- Estación de taponado formado por una mesa vibratoria donde se instala la tambora y la guía de tapones de manera aséptica.
- Estación de sellado formado por una mesa vibratoria donde permanece una tambora vibratoria donde se alimentan los sellos, una guía, un posicionador y un retapador.

La máquina llenadora de 7 000 bb/h presenta diferentes estaciones fundamentales:

- Estación de dosificación formada por bombas de dosificación peristáltica de dos cabezales en la base de la máquina con integración eléctrica y mecánica.
- Sistema de control automático de volumen (IPC) para el 100 % de las unidades
- Estación de taponado formado por un depósito de reserva de tapones, una tambora vibratoria de pequeño tamaño, una guía pequeña de dos carriles y un posicionador de tapones accionado por vacío.
- Estación de sellado consta de dos cabezales y una cuchilla cada uno. Se declaran RECETAS por formatos y productos.

En el área de llenado aséptico se realizan los controles siguientes durante el proceso:

- Control ambiental
- Control de superficies

- Control de volumen dispensado
- Control de partículas
- Control microbiológico del personal
- Inspección del proceso de llenado por parte del supervisor del turno y del inspector de Aseguramiento de la Calidad
- Control de la integridad del sistema cierre-contenedor

Área de Inspección Óptica

Las unidades recibidas del área de llenado se inspeccionan al 100 % con el objetivo de separar aquellos bulbos que presenten defectos visibles. La inspección óptica que se realiza a cada uno de los lotes es manual.

Discusión de Resultados

En las tablas 2 y 3 se muestran los resultados obtenidos en las etapas de llenado aséptico e inspección óptica respectivamente, de los tres primeros lotes de HemoCen Aerobio Neonatal, fabricados en la PPP3 en el año 2014. En las tablas 4 y 5 se exponen los resultados obtenidos de los tres primeros lotes de HemoCen Aerobio; y en las tablas 6 y 7 los resultados del HemoCen Aerobio Pediátrico fabricados en la PPP2 en el año 2016.

Tabla 2- Llenado Aséptico de HemoCen Aerobio Neonatal (bb x 9mL)

Fecha	Lote	Unidades Teóricas	Unidades Reales	Rendimiento (%)	Merma Planificada.	Merma No Planificada.	Merma Total
03/05/2014	A	5444	4983	94.21	146	93	239
03/05/2014	B	5444	4646	88.00	145	89	234
03/05/2014	C	5444	4761	89.40	106	84	190

Tabla 3 - Revisión Óptica de HemoCen Aerobio Neonatal

Fecha	Lote	Unidades Aceptadas	Unidades Rechazadas	Unidades Revisadas	Rendimiento (%)
13/05/2014	A	4956	9	4965	99.81
14/05/2014	B	4616	7	4623	99,84
14/05/2014	C	4742	19	4761	99.60

Tabla 4 - Llenado Aséptico de HemoCen Aerobio (bb x 80mL)

Fecha	Lote	Unidades Teóricas	Unidades Reales	Rendimiento (%)	Merma Planificada	Merma No Planificada	Merma Total
01/11/2016	D	1230	976	87,31	98	199	297
02/11/2016	E	1230	900	80,16	86	288	374
03/11/2016	F	1280	1159	98.04	96	210	306

Tabla 5 - Revisión Óptica de HemoCen Aerobio

Fecha	Lote	Unidades Aceptadas	Unidades Rechazadas	Unidades Revisadas	Rendimiento (%)
02/11/2016	D	976	0	976	100,00
02/11/2016	E	895	5	900	99,44
03/11/2016	F	1066	93	1159	91,97

Tabla 6 - Llenado Aséptico de HemoCen Aerobio Pediátrico (bb x 40mL)

Fecha	Lote	Unidades Teóricas	Unidades Reales	Rendimiento (%)	Merma Planificada	Merma No Planificada	Merma Total
07/11/2016	G	2550	2416	98.74	102	329	431
08/11/2016	H	2462	2328	98.09	87	250	337
08/11/2016	I	2550	2426	98.54	87	420	507

Tabla 7 - Revisión Óptica de HemoCen Aerobio Pediátrico

Fecha	Lote	Unidades Aceptadas	Unidades Rechazadas	Unidades Revisadas	Rendimiento(%)
09/11/2016	G	2321	95	2416	96,06
11/11/2016	H	2264	64	2328	97,25
09/11/2016	I	2312	114	2426	95,30

En cuanto a la conciliación de cantidades entre las etapas de llenado e inspección óptica, los resultados son satisfactorios pues en todos los lotes las cantidades de unidades revisadas cumplen con el criterio de que no exceden el valor establecido de ± 0,3 % de las unidades disponibles del llenado.

En el momento que se realizaron los lotes de HemoCen Aerobio Neonatal se tomaban las unidades teóricas por las emitidas en la orden de producción y no por las unidades correspondientes al volumen real formulado, que en estos casos era menor, lo que

provoca que los rendimientos operacionales correspondientes a los lotes B y C estén por debajo del 90 %. En la actualidad está establecido realizar el cálculo del rendimiento por el volumen real formulado que se refleja en la identificación de la bolsa, lo cual muestra el comportamiento real del proceso.

Las mermas no planificadas obtenidas en los procesos de HemoCen Aerobio y HemoCen Aerobio Pediátrico se deben en un gran porciento a bulbos que no cumplen con la dispensación establecida. En todos los casos esta merma representa más del 90% de la merma total no planificada. Las unidades que fueron rechazadas por volumen fuera de rango están asociadas al control de volumen del 100% de las unidades, que realizan las máquinas llenadoras de la PPP2.

Los rendimientos operacionales de los dos primeros lotes fabricados de HemoCen Aerobio fueron los más bajo debido a las mermas no planificadas obtenidas, fundamentalmente por volumen fuera del rango. Esto incide marcadamente en el rendimiento, pues los tamaños de lotes son muy pequeños. Es importante destacar que el personal aun no presentaba una familiarización total con la nueva tecnología.

Los resultados de los ensayos analíticos de los lotes llenados de los productos HemoCen Aerobio Neonatal, HemoCen Aerobio y HemoCen Aerobio Pediátrico, según el PNO 01.386 “Toma de muestras de producto llenado en áreas asépticas”, se muestran en la tabla 8. Los laboratorios de Control de la Calidad de BioCen, tuvieron la responsabilidad de realizar estos ensayos para la liberación de los lotes según los procedimientos establecidos.

Tabla 8- Resultados de los ensayos analíticos de los productos HemoCen Aerobio Neonatal HemoCen Aerobio y HemoCen Aerobio Pediátrico

Requisitos de calidad	Límite de aceptación	Resultados		
		HemoCen Aerobio Neonatal	HemoCen Aerobio	HemoCen Aerobio Pediátrico
A- Color del medio	Ámbar	A. responde B. responde C. responde	D- responde E- responde F- responde	G-responde H- responde I- responde
B- Apariencia del medio	Transparente, brillante y sin presencia de precipitados	A- responde B- responde C- responde	D- responde E -responde F- responde	G-responde H- responde I- responde
C- pH del medio	7,3 ± 0,2	A- 7.4 B- 7.4 C- 7.4	D- 7.5 E-7.5 F- 7.5	G-7.5 H-7.5 I-7.5
D- Volumen del medio	9 mL ± 0,9 mL (Neonatal) 80 mL ± 4 mL (HemoCen Aerobio) 40 mL ± 4 mL (Pediátrico)	A- 9 B- 9.2 C- 9	D- 81 mL E- 81 mL F- 80 mL	G- 40 mL H- 40 mL I- 40 mL
E- Esterilidad	Pasa la prueba	A- sí B- sí C- sí	D - sí E- sí F- sí	G- sí H- sí I - sí
Escherichia coli ATCC 25922,	Opalescente	A- responde B- responde C- responde	D- responde E -responde F- responde	G-responde H- responde I- responde
Klebsiella pneumoniae ATCC 13883	Opalescente	A- responde B- responde C- responde	D- responde E-responde F- responde	G-responde H- responde I- responde
Staphylococcus aureus ATCC 25923	Opalescente	A- responde B- responde C- responde	D- responde E-responde F- responde	G-responde H- responde I- responde
Pseudomonas aeruginosa ATCC 27853	Opalescente	A- responde B- responde C- responde	D- responde E -responde F- responde	G-responde H- responde I- responde
Candida albicans ATCC 10231	Opalescente	A- responde B- responde C- responde	D- responde E- responde F- responde	G-responde H- responde I- responde

También se analizó el comportamiento de los parámetros del Programa de Monitoreo Ambiental (PMA) en el local de llenado a empleando los métodos de placas expuestas, muestreo volumétrico del aire, placas de contacto utilizadas en el vestuario del personal y superficies, conteo de partículas continuo en Grado A y conteo de partículas en Grado B. Los resultados que incluyen las condiciones de reposo y operación, están

conformes y se encuentran archivados en los Expedientes de Lotes. Además, los valores de los resultados de los Suministros de Apoyo Crítico cumplen con lo establecido en las especificaciones.

Conclusiones

- Se obtuvieron lotes con resultados satisfactorios y consistentes, en las tres presentaciones de HemoCen Aerobio que cumplieron con los requisitos de calidad según las especificaciones establecidas.
- Se logró obtener en las Plantas de Productos Parenterales de BioCen la licencia de producción otorgada por el CECMED para el HemoCen Aerobio Neonatal, HemoCen Aerobio Pediátrico y HemoCen Aerobio.

Referencias bibliográficas

1. ZHURBENKO Raisa, RODRÍGUEZ MARTÍNEZ Claudio., et al., Validación del desempeño clínico del medio para hemocultivo de producción nacional HemoCen Aerobio. 8vo Congreso cubano de Microbiología y Parasitología. 5to Congreso Nacional de Medicina Tropical and 5to Simposio Internacional de infecciones HIV/SIDA en Cuba. 2014.

2. CECMED, *Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de Productos Farmacéuticos*, Regulaciones Reg 16:2012, Anexo 4. 2011, Centro para el Control Estatal de la Calidad de los Medicamentos, Ministerio de Salud Pública: La Habana, Cuba.

3. Union Europea, Guide to Good Manufacturing Practice for Medicinal Products. The rules governing medicinal products in the European Union. 1998, European Union.

4. FABRICACIÓN DE MEDICAMENTOS DE USO HUMANO Y VETERINARIO. *Guía de Normas de Correcta Anexo 1 Fabricación de medicamentos estériles.* Union Europea, 2009. http:// ec.europea.eu/health/ documents/eudralex/vol-4/index en.htm.

5. PIC/S PE 009-10, *Guide to good manufacturing practice for medicinal products. Annexes.* January 2013 web site: http://www.picscheme.org. Pharmaeutical Inspection Convention.

6. ISO, ISO 14644-1:1999. *Cleanroom and Associated Controlled Environment. Part1. Classification of airborne cleanliness*, International Organization for Standardization. 1999.

7. ISO, *ISO 14644-5:2004 Cleanroom and Associated Controlled environment cleanroom operation*, International Organization for Standardization. 2004.

8. ISO, ISO 13408-1:2008 *Aseptic processing of health care products. Part 1: General requirements* 2008, International Organization for Standardization.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no existen conflictos de intereses.