

II Congreso Egarense "Legionella y Calidad del aire: el reto de hoy"

Terrassa,
22 y 23
de noviembre
del 2006



Monitorización de ambientes controlados

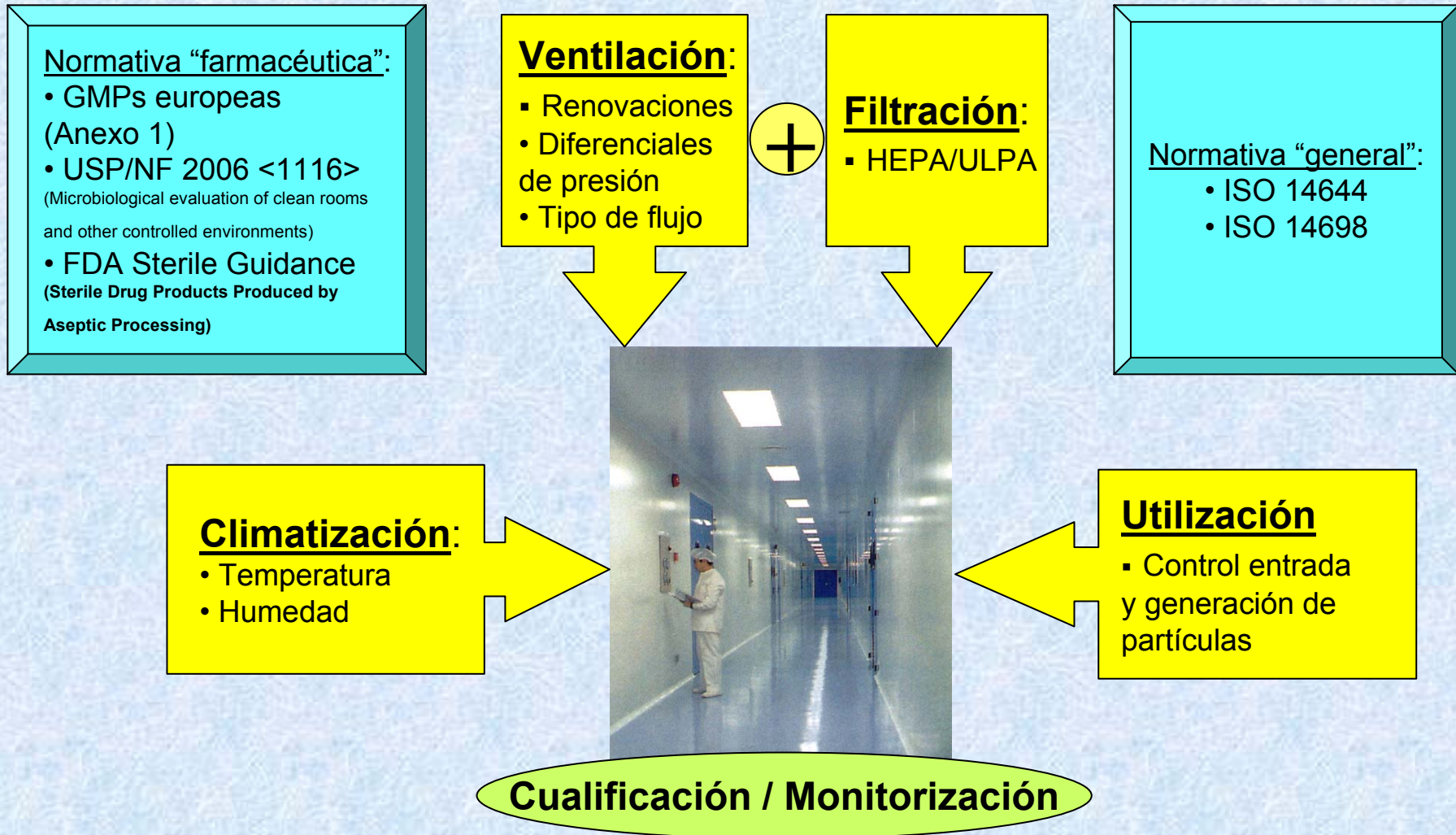


Jordi Botet

① Introducción

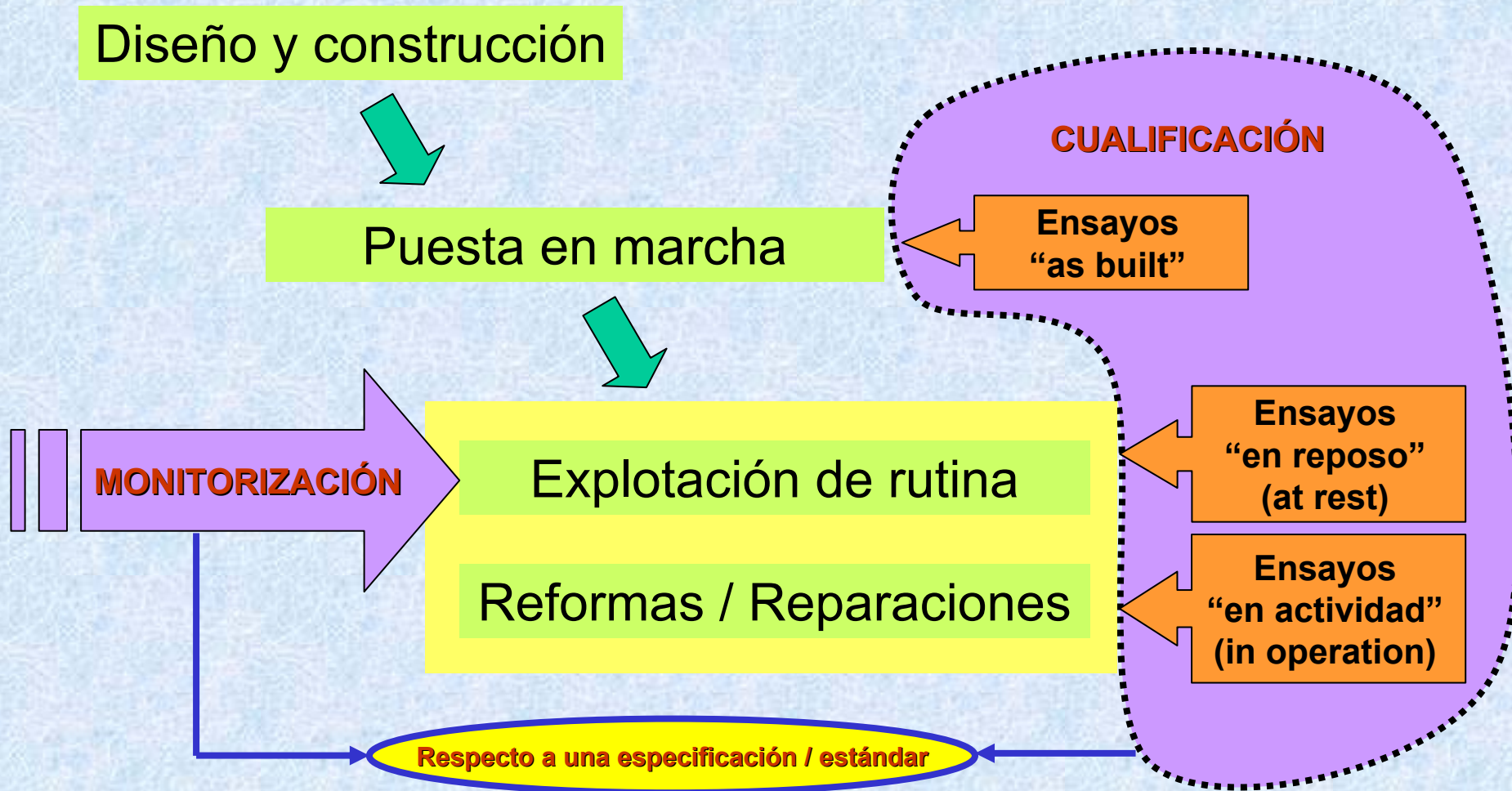
II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción



II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción



II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción

Cualificar supone verificar, en unas determinadas condiciones y en un momento dado, la funcionalidad de una instalación.

En cambio, **monitorizar**, significa verificar el funcionamiento de la instalación durante su utilización.

La **monitorización**, a diferencia de la **cualificación**, no posee valores absolutos especificados, sino “recomendados”.

Además, las técnicas de toma de muestras presentan una notable variabilidad.

La **monitorización** permite valorar la efectividad de las prácticas de limpieza y desinfección, así como determinar si se está trabajando en condiciones adecuadas. Por eso ha de efectuarse en las condiciones normales de trabajo.

II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción

La monitorización de un ambiente controlado puede abarcar:

Parámetros físicos (“aspectos funcionales”):

- Concentración de partículas en el aire.
- Presión diferencial
- Colmatación de filtros
- Temperatura.
- Humedad relativa.
- ...

Quantificación de microorganismos:

- En el aire.
- En superficies.
- En suelos.
- En paredes.
- En equipos.
- En vestimenta.
- ...

II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción

Hay aspectos funcionales de los ambientes controlados que se prestan a ser monitorizados:

Determinación de la concentración de partículas en el aire mediante contadores de partículas on line

["Deberá utilizarse un sistema continuo de medida para monitorizar la concentración de partículas en la zona de grado A y se recomienda para el entorno de grado B". (Anexo 1 de las GMPs europeas, 3A)].

Control de la presión diferencial entre salas mediante manómetros diferenciales.



Control de la colmatación de los filtros mediante manómetros diferenciales.



Control de la temperatura y la HR ambiental mediante termómetros e higrómetros.



II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción

- **La calidad del aire debe ser adecuada y controlada. Los parámetros de control deben estar basados en los datos microbiológicos y de partículas obtenidos en los estudios de cualificación.**
- **Aunque la cualificación inicial del aire se efectúe “en reposo”, la monitorización rutinaria se hará “en funcionamiento”.**

[FDA Sterile Guidance]

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción

Aunque de manera general pueda decirse que “a menos partículas en el aire, menos microbios”, no existe, sin embargo, correlación entre los valores de recuento de partículas y de microorganismos.

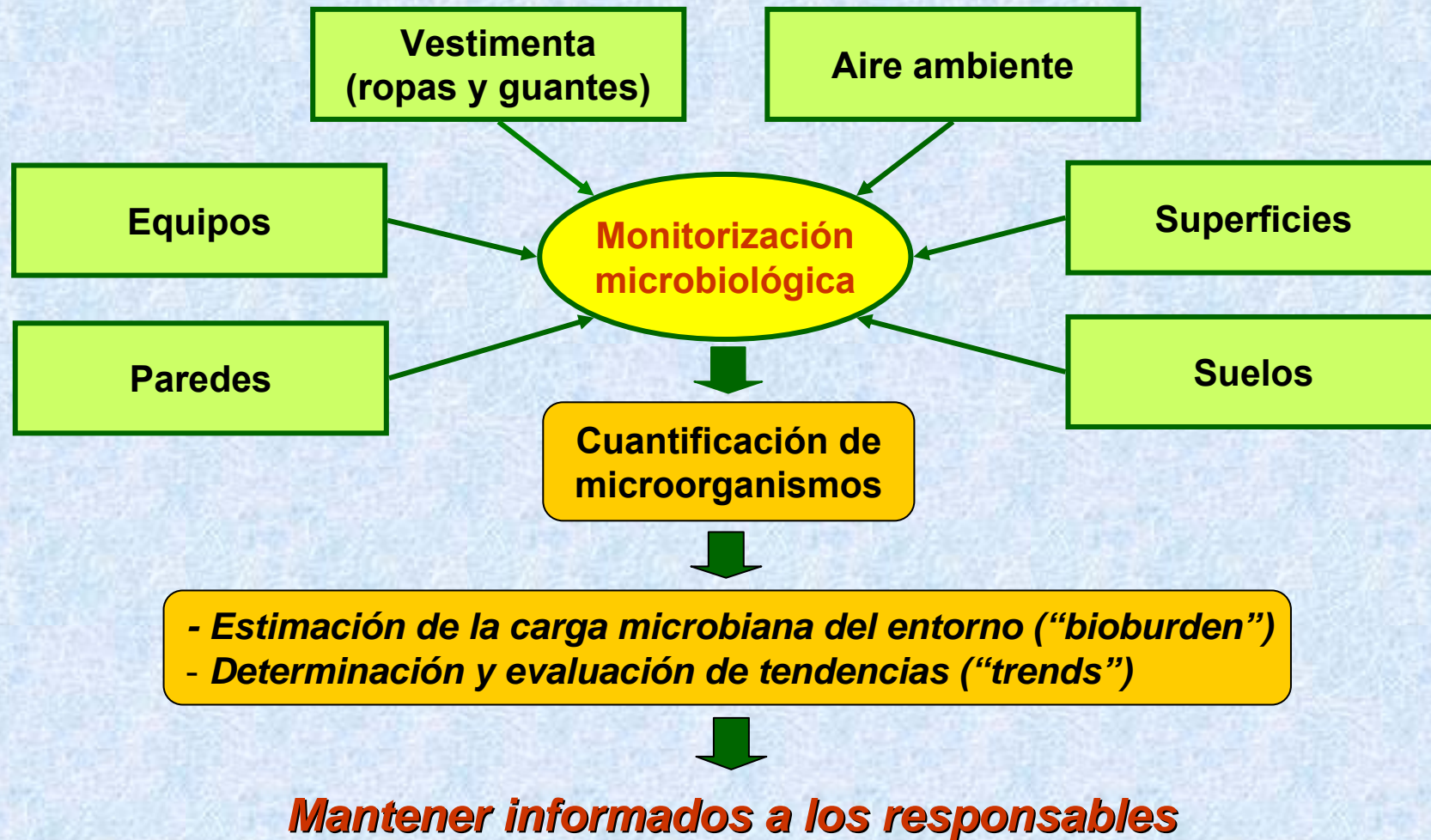
Los contadores cuentan partículas de 0,5 μ m o mayores

Los microorganismos no son normalmente células libres flotantes, sino que se suelen asociar a partículas mayores (10 - 20 μ m)



II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

① Introducción

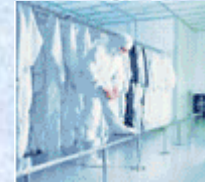


② Estrategia

② Estrategia

La monitorización de los ambientes controlados se efectúa aplicando un “Programa de control ambiental”



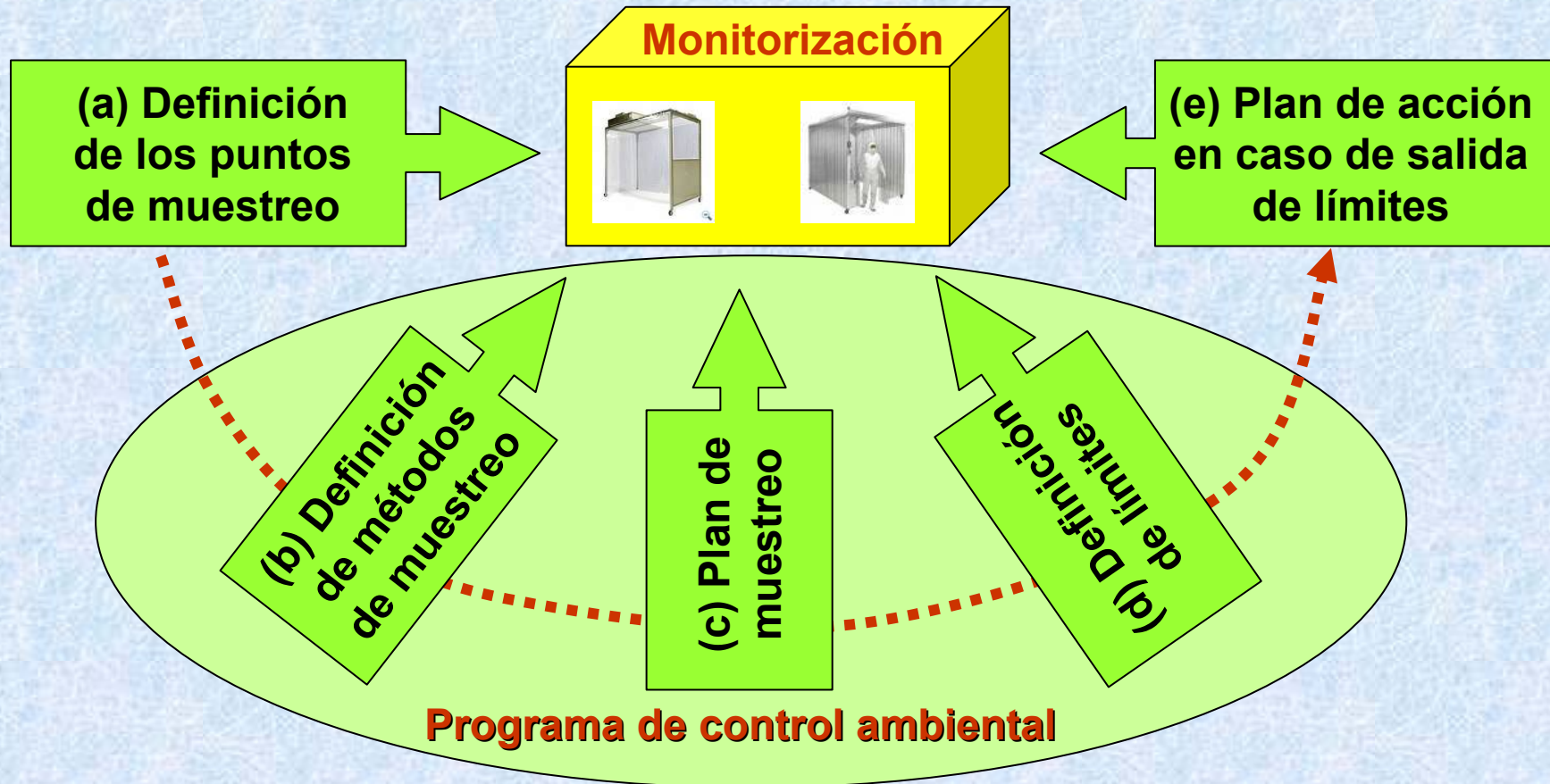


Programa de control ambiental

- **Permite verificar la calidad del aire en la zona de proceso, ver las tendencias de su entorno y así prevenir contaminaciones.**
- **Ha de cubrir todos los turnos de trabajo y comprender los aspectos relevantes (aire, suelos, paredes, vestimenta, superficies en general y muy particularmente las superficies de los equipos que entran en contacto con el producto, los recipientes y los tapones).**

II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia



Es esencial que permita detectar los cambios a tiempo para poder tomar medidas.

(a) Puntos de muestreo

Análisis del riesgo (“functional risk assessment”)



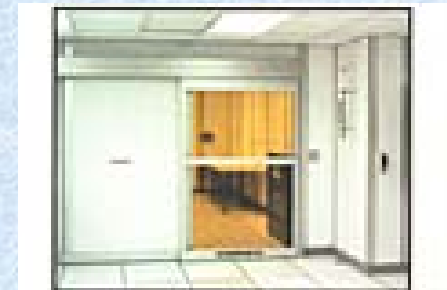
- No se puede controlar todo.
- Se ha de conocer exactamente la situación (que hacemos, que riesgos corremos, que probabilidad existe de que estos riesgos se conviertan en peligros, cual es nuestro objetivo)
- Así podemos seleccionar aquello que debemos controlar.



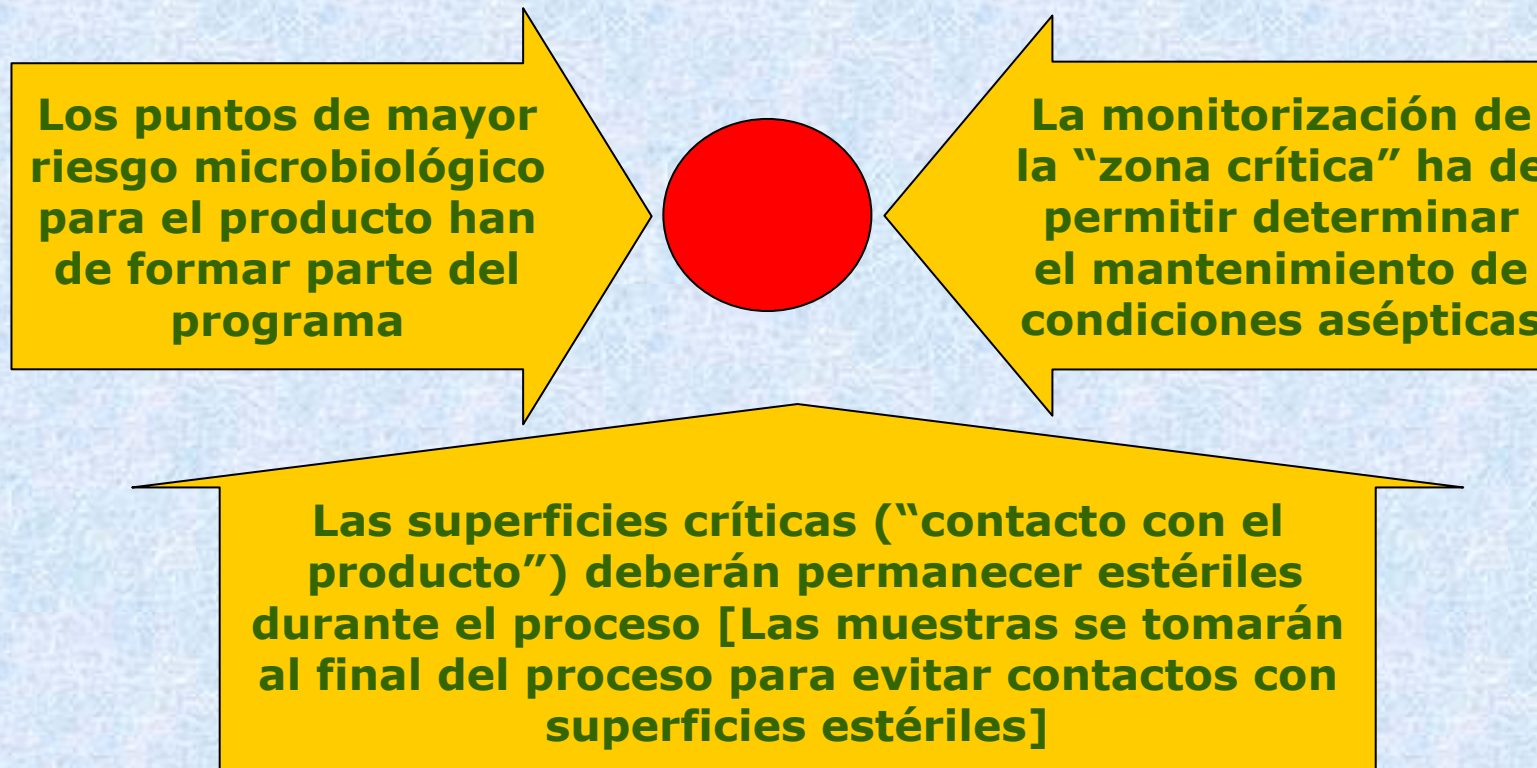
Planificación de la monitorización
(programa de control ambiental)

(a) Puntos de muestreo

Los puntos críticos se elegirán en función de la proximidad al producto o si se trata de aire o de superficies que pueden estar en contacto con el producto o con sus contenedores y tapones. Estas áreas críticas requerirán mayor monitorización que aquellas en las que no exista contacto con el producto.



(a) Puntos de muestreo



[FDA Sterile Guidance]

(b) Métodos de muestreo

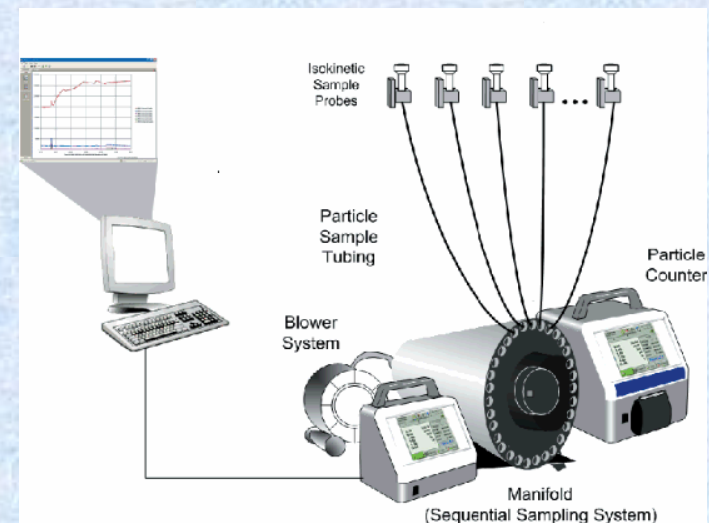
- **Contaje de partículas**
- **Placas de sedimentación**
- **Muestreadores activos de aire**
- **Muestreo de superficies**
- **Muestreo de guantes / ropa**

Todos ellos tienen sus limitaciones y aplicaciones preferentes.



(b) Métodos de muestreo: Contaje de partículas

La monitorización de la concentración ambiental de partículas permite detectar desviaciones significativas en la limpieza del aire. Se recomienda efectuar un muestreo activo en cada turno de trabajo, en los puntos seleccionados de manera específica para evaluar el proceso).



(b) Métodos de muestreo: Contaje de partículas

El aire de la zona crítica debe monitorizarse durante cada turno de trabajo.

Se recomienda usar contadores fijos controlados a distancia.

Normalmente, en la monitorización no deberían detectarse microorganismos.

[FDA Sterile Guidance]

II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(b) Métodos de muestreo: Microorganismos viables en aire

Toma de muestras “activa”

“Slit-to-agar air sampler (STA)”: El aire es enviado a través de una rendija sobre una placa de Petri, que gira lentamente.



La norma ISO 14698 proporciona orientación sobre validación de muestreadores activos de aire. Sieve impactor: El aire es enviado a través de una placa perforada sobre una placa de Petri.



“Centrifugal sampler”: El aire es impulsado mediante una turbina sobre una tira de agar o placa de Petri situada tangencialmente.



II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(b) Métodos de muestreo: Microorganismos viables en aire

Toma de muestras “activa”

“Sterilizable Microbiological Atrium (SMA)”:
Es una variante del “sieve impactor” en que el aire es aspirado a través una tapa perforada sobre una placa de Petri.



“Surface air system sampler: El aire pasa por una placa de Petri al ser aspirada por un motor situado detrás de la misma.



“Gelatin filter sampler”: El aire es aspirado a través de un filtro de fibras de gelatina. Por disolución del filtro se liberan aquellos microorganismos que quedaron retenidos y se pueden contar.



La norma ISO 14698 proporciona orientación sobre validación de muestreadores activos de aire.

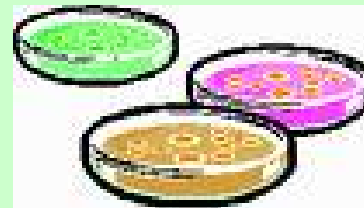
② Estrategia

(b) Métodos de muestreo: Microorganismos viables en aire

Toma de muestras “pasiva”

Las placas de Petri de sedimentación se colocan en puntos de riesgo. Es importante verificar que durante la exposición no se secan.

Los microorganismos caen simplemente sobre ellas.



II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(b) Métodos de muestreo: Microorganismos viables en superficies

Toma de muestras “activa”

Placas de contacto, conocidas como placas Rodac (Replicate Organism Detection and Counting)



Mediante escobillones (“swabbing”), para superficies irregulares. El escobillón se eluye y se efectúa un recuento. La superficie frotada suele ser de 24 a 30 cm².



La norma ISO 14698 proporciona orientación sobre determinación de biocontaminación en superficies.

② Estrategia

(b) Métodos de muestreo: Microorganismos viables en vestimenta

Toma de muestras “activa”

Toma diaria / relacionada con cada lote de muestras de la superficie de los guantes y de otras localizaciones estratégicas de los operadores. [FDA Sterile Guidance].

Se utilizan placas de contacto o escobillones.

La norma ISO 14698 proporciona orientación sobre determinación de biocontaminación en ropas.



(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental)

[FDA Sterile Guidance]

Los procedimientos normalizados de trabajo (PNTs) deben especificar:

- puntos de muestreo
 - momento del muestreo
 - duración del muestreo
 - tamaño de la muestra
 - procedimiento de muestreo
 - frecuencia de muestreo
 - niveles de alerta y de acción
 - acciones en caso de desviaciones
- [en función de las operaciones efectuadas]



(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental)

- **Los niveles establecidos serán función de la necesidad de mantener un control microbiológico adecuado de la unidad.**
- **En los procedimientos se indicará la frecuencia de revisión de los datos y de las acciones a efectuar.**
- **Los responsables de la unidad estarán informados regularmente de las tendencias y de los resultados investigaciones.**

[FDA Sterile Guidance]

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental)

La identificación de los microorganismos aislados proporciona información valiosa, ya que permite, por ejemplo, detectar el paso de contaminación desde el entorno a la zona crítica.

Recuento de	Referencia	Incubación (temperaturas y tiempos)
Aerobios	USP 2006 <1116>	32,5±2,5°C / 48 h
	FDA Sterile Guidance	30-35°C / 48-72 h
Hongos y levaduras	USP 2006 <1116>	22,5±2,5°C / 72 h
	FDA Sterile Guidance	20-25°C / 5-7 días

Medios de cultivo más comúnmente usados	
<small>(Pueden usarse medios alternativos, siempre que se validen. Debe haber crecimiento al inocular con menos de 100 cfu de un organismo de prueba)</small>	
Para Aerobios	Soybean-Casein Digest Agar / Trypticase Soy Agar (TSA) / Agar soja triptona
Para Hongos y levaduras	Agar Sabouraud

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(c) Plan de muestreo

Clasificación	Frecuencia de muestreo
Clase 100 / Clase 10.000	cada turno de trabajo
Clase 100.000 / Áreas de contacto potencial con producto o con envases	dos veces a la semana
Otros casos	una vez a la semana
USP/NF 2006 <1116> (Microbiological evaluation of clean rooms and other controlled environments)	

(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental: prácticas de vestimenta)

- **Se verificará regularmente que el personal sigue adecuadamente las prácticas de vestimenta. Se recomienda utilizar muestreos microbiológicos (guantes, mascarilla, antebrazos, pecho...) ⇒ cualificación inicial + recualificación anual.**
- **El personal de control de calidad implicado en la unidad también está incluido.**

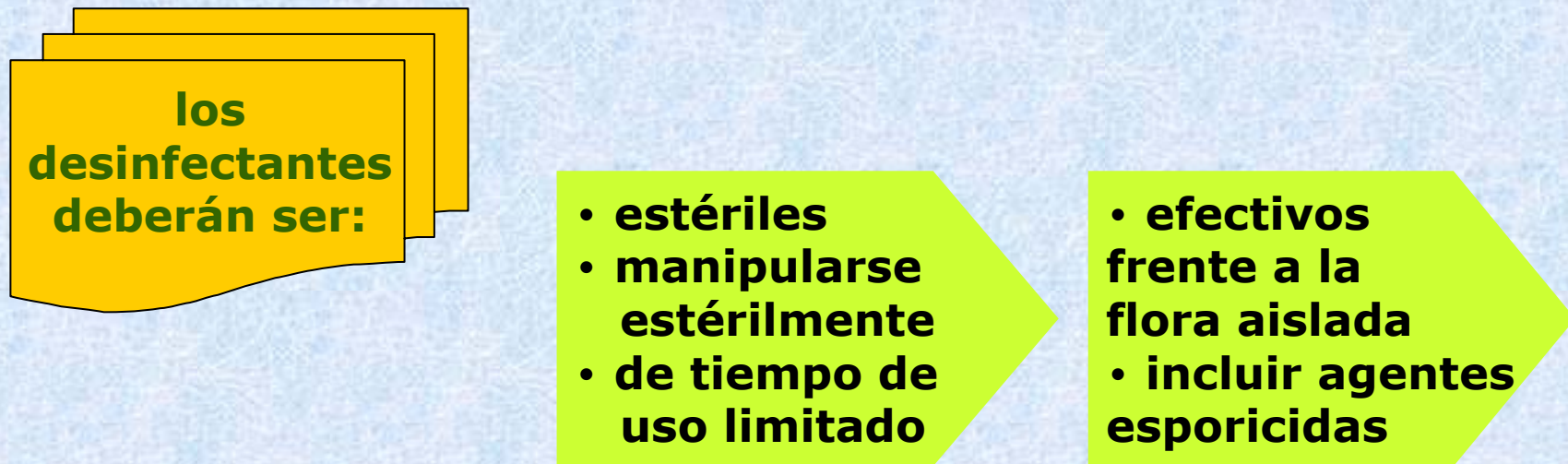
[FDA Sterile Guidance]

② Estrategia

(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental: prácticas de desinfección)

Dentro del programa de control ambiental Deberá demostrarse la eficacia de la desinfección.

[FDA Sterile Guidance]



(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental: prácticas de desinfección)

Deberá disponerse de PNTs de desinfección.

[FDA Sterile Guidance]

**PNTs
desinfectantes**

- preparación
- procedimiento (modo de aplicación y tiempo de contacto)
- programa de evaluación rutinaria (prever la verificación de su eficacia frente a los organismos aislados en los episodios de contaminación)
- programa de uso del esporicida (periódico y cuando se sospeche presencia de esporulados)

② Estrategia

(c) Plan de muestreo (programa de control ambiental: presión diferencial)

Las presiones diferenciales deben ser monitorizadas continuamente en cada turno de trabajo y ser registradas frecuentemente.

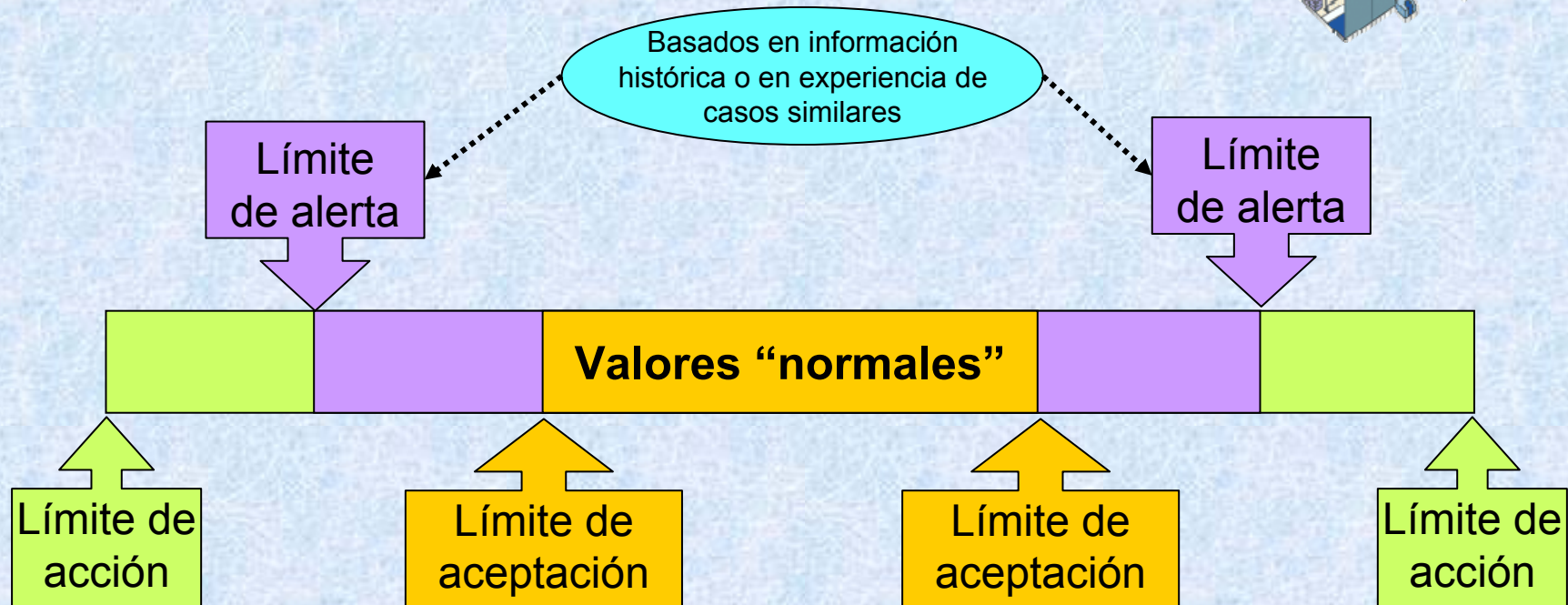
[FDA Sterile Guidance]



II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:



II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Muestreo activo de aire (resumen)					
Clasificación ambiental			Límites recomendados de contaminación microbiana (valores medios) (ufc/m ³)		
Grado Anexo 1 (GMPs europeas)	Clase ISO 14 644	Clase Fed. Std. 209 (obsoleto)	Anexo 1 (GMPs europeas)	FDA Sterile Guidance	USP 2006 <1116>
A	5	100	< 1	1	< 3
C	7	10.000	100	10	< 20
D	8	100.000	200	100	< 100

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Placas de sedimentación (resumen)					
Clasificación ambiental			Límites recomendados de contaminación microbiana (valores medios) (ufc/m³)		
Grado Anexo 1 (GMPs europeas)	Clase ISO 14 644	Clase Fed. Std. 209 (obsoleto)	Anexo 1 (GMPs europeas) Ø 90 mm (ufc/4 horas)	FDA Sterile Guidance Ø 90 mm (ufc/4 horas)	USP 2006 <1116>
A	5	100	< 1	1	---
C	7	10.000	50	5	---
D	8	100.000	100	50	---

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Placas de contacto (resumen)					
Clasificación ambiental			Límites recomendados de contaminación microbiana (valores medios) (ufc/placa)		
Grado Anexo 1 (GMPs europeas)	Clase ISO 14 644	Clase Fed. Std. 209 (obsoleto)	Anexo 1 (GMPs europea Ø 55 mm (ufc/placa)	FDA Sterile Guidance Ø 90 mm (ufc/4 horas)	USP 2006 <1116>
A	5	100	< 1	---	3 (suelo incluido)
C	7	10.000	25	---	5 10 (suelo)
D	8	100.000	50	---	---

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Vestimenta (resumen)						
Clasificación ambiental			Límites recomendados de contaminación microbiana <i>(valores medios) (ufc/placa)</i>			
Grado Anexo 1 (GMPs europeas)	Clase ISO 14 644	Clase Fed. Std. 209 (obsoleto)	Anexo 1 (GMPs europea Impresión de guantes 5 dedos (ufc/guante)	FDA Sterile Guidance	USP 2006 <1116> (ufc/placa de contacto)	
					Guantes	Ropa
A	5	100	< 1	---	3	5
C	7	10.000	---	---	10	20
D	8	100.000	---	---	---	---

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Anexo 1 de las GMPs europeas				
Límites recomendados de contaminación microbiana "en funcionamiento" (valores medios)				
Grado	Muestra de aire (ufc/m³)	Placas de sedimentación Ø 90 mm (ufc/4 horas)	Placas de contacto Ø 55 mm (ufc/placa)	Impresión de guantes 5 dedos (ufc/guante)
A	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	---
D	200	100	50	---

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Guidance FDA Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing				
Clasificación del aire “en funcionamiento” (en actividad / toma de muestras cerca del producto)				
Partículas de 0,5 µm/pe³	Clase ISO	Partículas ≥0,5 µm/m³	Muestra de aire (ufc/m³)	Placas de sedimentación Ø 90 mm (ufc/4 horas)
100	5	3 520	1	1
1 000	6	35 200	7	3
10 000	7	352 000	10	5
100 000	8	3 520 000	100	50

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Muestras de aire (USP/NF 2003 <1116>)	
Clasificación	ufc /m³ de aire
Clase 100	< 3
Clase 10.000	< 20
Clase 100.000	< 100

Placas de contacto (USP/NF 2003 <1116>)	
Clasificación	ufc /placa de contacto*
Clase 100	3 (suelo incluido)
Clase 10.000	5 / 10 (suelo)

* La superficie de las placas de contacto varia desde 24 a 30 cm². Cuando las muestras se tomen con escobillones, el área cubierta deberá ser como mínimo de 24 cm², pero inferior a 30 cm².

II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

(d) Definición de límites:

Vestimenta (USP/NF 2003 <1116>)		
Clasificación	ufc /placa de contacto*	
	Guantes	Ropa
Clase 100	3	5
Clase 10.000	10	20

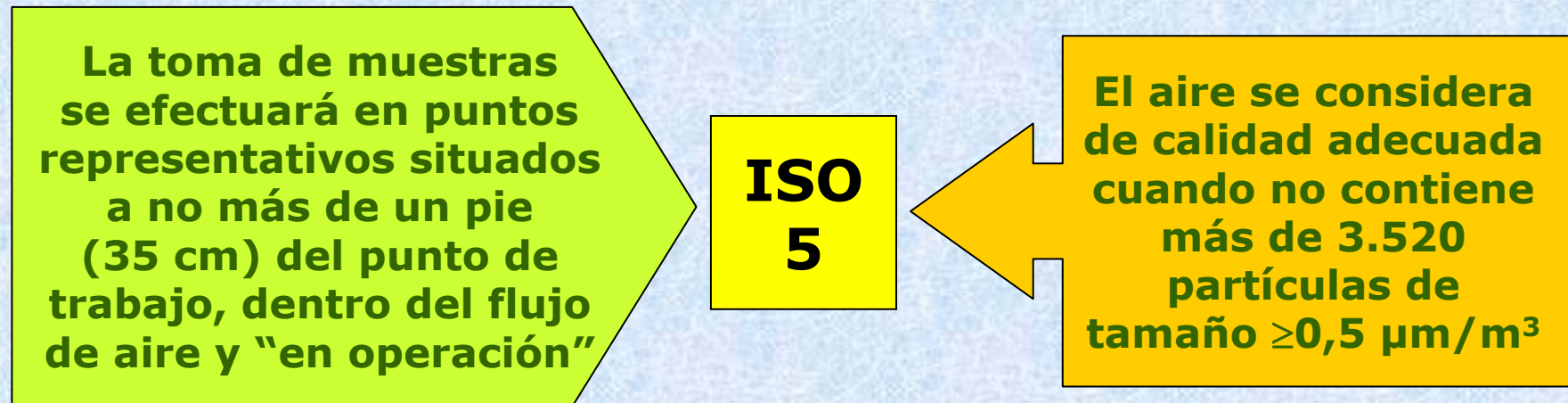
* La superficie de las placas de contacto varia desde 24 a 30 cm². Cuando las muestras se tomen con escobillones, el área cubierta deberá ser como mínimo de 24 cm², pero inferior a 30 cm².

II Congreso Egarense: *Legionella* y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia

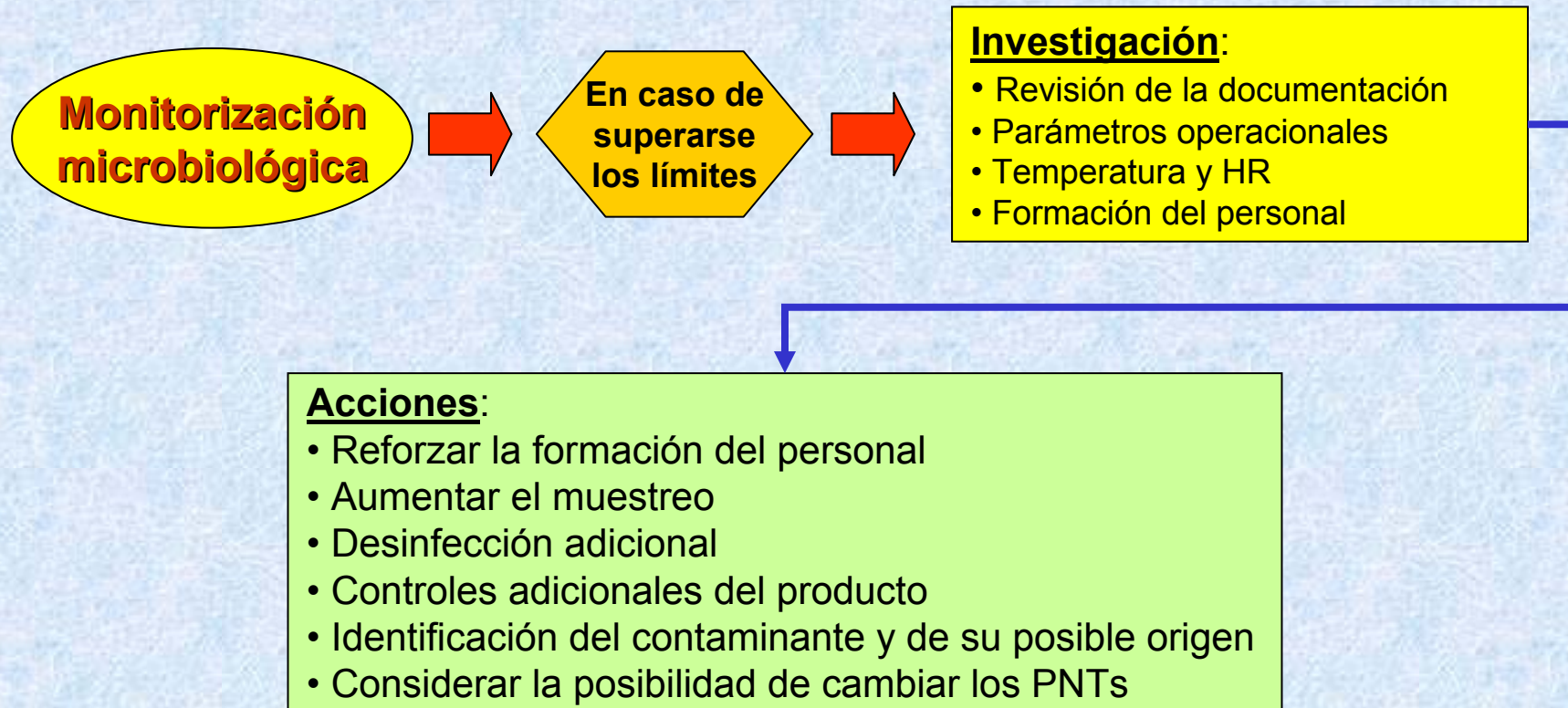
(d) Definición de límites:

El “área crítica” es aquella en la que el producto o los materiales están expuestos al ambiente. En ella el nivel de limpieza del aire se ha de controlar y mantener.



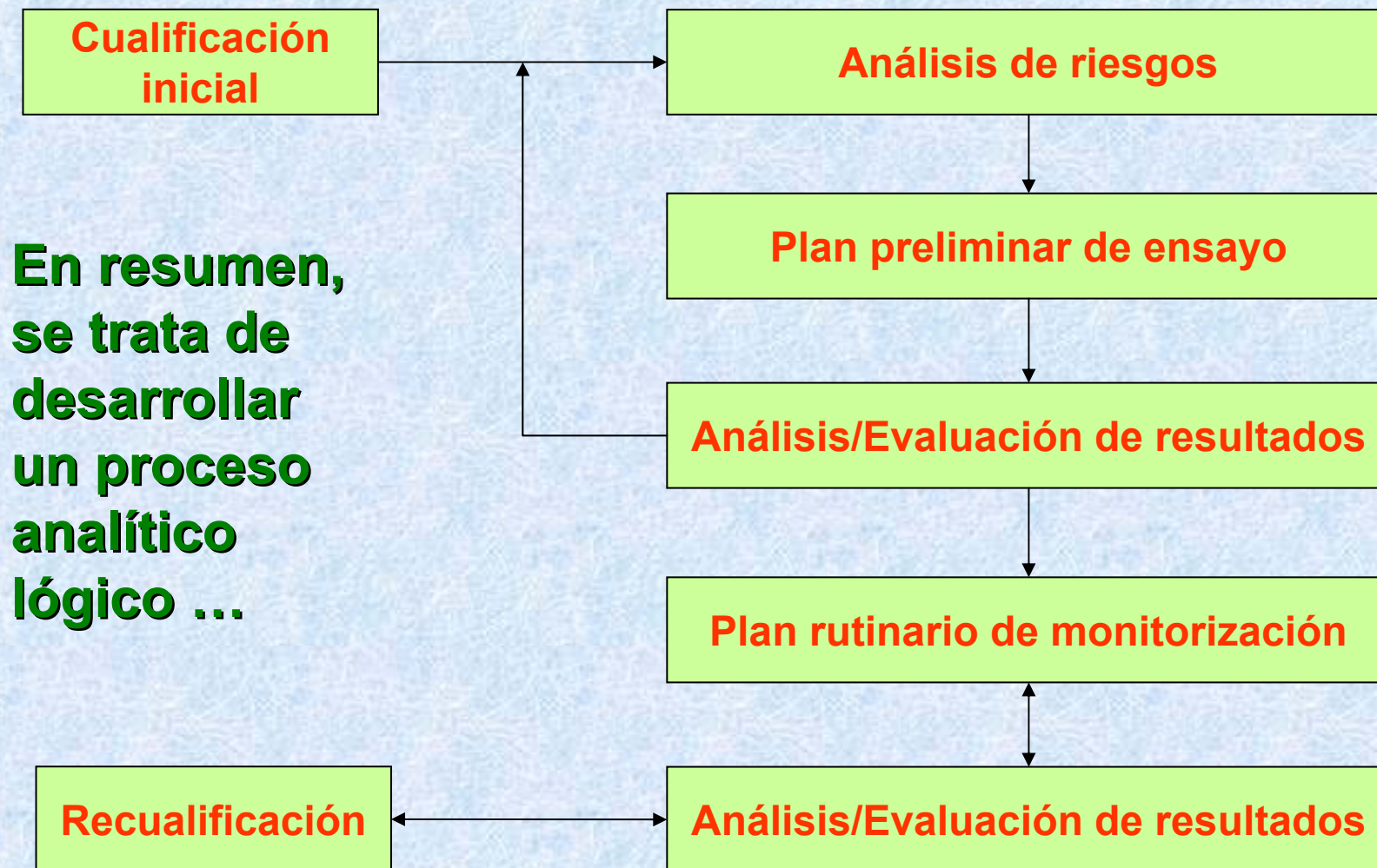
[FDA Sterile Guidance]

(e) Plan de acción en caso de salida de límites:



II Congreso Egarense: Legionella y calidad del aire: el reto de hoy

② Estrategia



③ Recualificación

③ Recualificación

La norma ISO 14644 relaciona la frecuencia de recualificación con la monitorización.

Una recualificación será pertinente después de modificaciones, de reparaciones o de operaciones de mantenimiento que puedan afectar a la instalación (por ejemplo, cambio de filtros).

Aquí también será aplicable el análisis de riesgos.

③ Recualificación

Periodicidad de los ensayos de recualificación de una sala limpia (ISO 14644)

Ensayo	Periodicidad (tiempo máximo entre ensayos)*	Comentarios
Contaje de partículas	<ul style="list-style-type: none">• Para clase ISO 5 cada 6 meses• Para otras clases (ISO 7 e ISO 8) cada 12 meses	<i>Se efectúa con la sala “operacional” o “en reposo”, según se haya definido</i>
Velocidad / Caudal de aire	<ul style="list-style-type: none">• Para todas las clases ISO (5, 7 y 8) cada 12 meses	<i>Se efectúa con la sala “operacional” o “en reposo”, según se haya definido. Los ensayos se determinarán por acuerdo entre el suministrador y el cliente, de entre estos.</i>
Presión diferencial		
Filtros		
<p>* Si la instalación dispone de un sistema de monitorización con control continuo o frecuente de la concentración de partículas en el aire y de la presión diferencial, el intervalo puede ser ampliado, siempre y cuando los resultados sean correctos</p>		