

Mejora de la fase preanalítica en los Laboratorios de Microbiología del Centro Nacional de Biopreparados

Yusleibi Oramas Díaz

yusleibi.oramas@biocen.cu

Centro Nacional de Biopreparados

Anna Tsoraeva

atsoraeva@biocen.cu

Centro Nacional de Biopreparados

RESUMEN

La fase preanalítica es un componente fundamental de los procesos operacionales realizados en los laboratorios de microbiología. Esta se considera de gran importancia, ya que en ella se desarrollan diversos procedimientos, que pueden afectar el resultado de los ensayos microbiológicos. Los errores durante la ejecución de la fase preanalítica pueden requerir repetición de ensayos, ocasionando costos adicionales para el laboratorio e influyendo directamente en la confiabilidad de los resultados. Un análisis preliminar de la fase preanalítica de los ensayos microbiológicos en el Centro Nacional de Biopreparados mostró incumplimientos de la Buenas Prácticas de Laboratorio, mayormente vinculados con la caducidad de los medios de cultivo y materiales y con la obsolescencia del equipamiento para la esterilización de estos. El presente trabajo tuvo como objetivo implementar un plan de mejora en la fase preanalítica en los Laboratorios de Microbiología del Centro de Nacional de Biopreparados. Para ello, se ejecutó un diagnóstico de esta etapa mediante técnicas y herramientas de calidad, que demostraron incumplimientos de aspectos regulatorios para las Buenas Prácticas de Laboratorio. Para trabajar en la eliminación de los incumplimientos fue establecido un plan con acciones, cada una con fechas de cumplimiento y establecimiento de responsabilidades. Los principales cambios identificados e implementados en la fase preanalítica se relacionan con la sustitución de la autoclave de esterilización, la determinación del tiempo de vida útil de los medios de cultivo y soluciones preparadas, la actualización del tiempo de vigencia de los materiales esterilizados y de la documentación y el entrenamiento del personal.

INTRODUCCIÓN

El Centro Nacional de Biopreparados (BioCen) es una institución científico-productiva integrada por varias plantas dedicadas a diferentes líneas en el universo biotecnológico y farmacéutico cubano: Medios de Cultivo y Bases Nutritivas, Ingredientes Farmacéuticos Activos y Productos Parenterales; además de contar con otras áreas de aseguramiento a la producción. También brinda servicios de ensayos por contrato a empresas del grupo empresarial de la Industria Biotecnológica, Farmacéutica Cubana (BioCubaFarma), Industria Alimentaria (NESCOR y CORALAC) e Industria Higiénica Sanitaria (MATHISA, Thai Binh y ARTHIS).

La institución evalúa la calidad de los productos basados en el potencial de sus conocimientos, la tecnología que posee y en el reconocimiento de la competencia de sus laboratorios, con varios ensayos acreditados según la norma NC-ISO/IEC 17025:2017 (Oficina Nacional de Normalización, 2017), para satisfacer las necesidades de los clientes con calidad, seguridad y confianza. También cuenta con un sistema de gestión de la calidad, certificado según la norma cubana NC-ISO 9001: 2015 (Oficina Nacional de Normalización, 2015) y trabaja en la mejora continua de todos sus procesos.

La gestión de la calidad es fundamental en la Industria Biofarmacéutica, dónde la seguridad y la eficacia de los productos son primordiales. Implica establecer y mantener altos estándares de calidad en todos los aspectos de la producción, desde la investigación y el desarrollo hasta la fabricación y distribución. Su objetivo es lograr la excelencia operativa y la satisfacción del cliente. Para ello cuenta con una serie de principios entre los que están cumplir las regulaciones y pautas establecidas por las agencias reguladoras nacionales e internacionales. El Centro para el Control Estatal de Medicamentos, Equipos y Dispositivos Médicos (CECMED) Autoridad Reguladora Nacional de Cuba, tiene la misión de promover y proteger la salud pública a través de sistemas reguladores (Guerra Bretaña & Sosa Vera, 2020), por lo que ha desarrollado las regulaciones nacionales relativas a la producción, control de la calidad, almacenamiento y distribución de medicamentos (CECMED, 2017).

La Dirección de Control de la Calidad de BioCen brinda servicios de ensayos microbiológicos, destacándose entre los centros de la Organización Superior de Dirección Empresarial BioCubaFarma como centro de referencia por la calidad de sus servicios. La calidad de los métodos analíticos empleados juega un papel decisivo en los resultados de los ensayos microbiológicos, pero debe tenerse en cuenta que, de la preparación de la fase preanalítica también depende en gran medida la calidad de los resultados.

En el Laboratorio de Control Microbiológico la etapa preanalítica de los ensayos requiere la realización de una serie de estudios que demuestren la validez de los parámetros de esterilización, tiempo de vida útil de los materiales, medios de cultivos y soluciones. Esta fase previa a la realización de un ensayo de laboratorio es vital en el proceso de trabajo para lograr la calidad y confiabilidad de los ensayos microbiológicos. Abarca el período comprendido desde que se prepara el material de trabajo hasta la evaluación de los medios de cultivo que se utilizan en las técnicas de los ensayos microbiológicos. Incluye la preparación del personal, de los materiales y equipos de trabajo, así como el procesamiento y conservación de los medios de cultivo y las cepas de referencia, además, de las condiciones del laboratorio (CECMED, 2017).

Un análisis preliminar de la fase preanalítica de los ensayos microbiológicos mostró algunos incumplimientos de las Buenas Prácticas de Laboratorio (BPL), mayormente vinculados con la caducidad de los medios y materiales y con la obsolescencia del equipamiento para la esterilización de estos. Dada esta situación, el objetivo de este trabajo es implementar un plan de mejora en la fase preanalítica en los Laboratorios de Microbiología del Centro de Nacional de Biopreparados.

El desarrollo del trabajo está estructurado en un primer acápite con fundamentación teórica de la aplicación de las Buenas Prácticas de Laboratorio en los ensayos microbiológicos, un segundo acápite que recoge el diagnóstico de la situación inicial en la fase preanalítica y la tercera parte con los resultados de las acciones de mejora realizadas.

DESARROLLO

La calidad en los laboratorios de microbiología

La microbiología tiene un gran campo de aplicación y de investigación dentro de la industria farmacéutica, pues permite realizar el control de la inocuidad y la esterilidad de los medicamentos, siendo un pilar imprescindible en los procesos de producción (Nájera Sánchez & Pérez Pacheco, 2019). En los ensayos microbiológicos, la fase preanalítica es un componente importante de los procesos operacionales realizados en los laboratorios, porque en ella se desarrollan diversos procedimientos, que pueden afectar la confiabilidad de los resultados (Acosta Parra, 2014; CECMED, 2017).

La gestión de la calidad en los laboratorios microbiológicos es esencial para minimizar los errores de personal, técnicos y de gestión (CROMTEK, 2023). Por ello, para asegurar la calidad de los resultados, los laboratorios establecen sus políticas y sus sistemas de gestión de la calidad, formalizados a través de la información documentada necesaria para garantizar y evidenciar la seguridad, la eficacia y la calidad de los productos farmacéuticos (SoftExpert, 2023). Todo ello, dando cumplimiento a las normativas aplicables como son las Buenas Prácticas de Laboratorio (CECMED, 2012; Organización Panamericana de la Salud, 2013), la norma NC-ISO/IEC 17025:2017 (Oficina Nacional de Normalización, 2017) y otras normas aplicables a los laboratorios que procesan muestras para ensayos microbiológicos (Oficina Nacional de Normalización, 2022; 2024).

El laboratorio debe tener disponibles el personal, las instalaciones, el equipamiento, los sistemas y los servicios de apoyo necesarios para gestionar y realizar sus actividades. Según el CECMED (2012a) el laboratorio debe contar con una cantidad suficiente de empleados que conozcan y apliquen los principios que rigen las BPL, con la experiencia práctica y las calificaciones necesarias. El personal del laboratorio debe recibir capacitación periódica y los de nuevo ingreso deben ser capacitados para ejercer las funciones y responsabilidades que se le asignen. También debe ser evaluada la eficacia de la capacitación, para saber si los trabajadores del laboratorio han adquirido las habilidades y el conocimiento necesario para realizar sus tareas de manera segura. Asegurar la competencia de los recursos humanos es la base para lograr un desempeño óptimo dentro de un laboratorio, ya que ellos son el activo más importante que existe (Lagomarsino, 2019). Otro requisito importante que se debe cumplir en los laboratorios de microbiología, es la adecuación de las instalaciones y las condiciones ambientales (Oficina Nacional de

Normalización, 2017). Las distintas actividades del laboratorio se deben realizar en áreas diferentes, para evitar la contaminación cruzada y los falsos positivos. Deben contar con locales de preparación de medios de cultivo, soluciones y materiales y con un área para la descontaminación y fregado de material. Se debe controlar el acceso a las áreas que afecten la calidad de los ensayos y se tomarán medidas que aseguren el orden y la limpieza del laboratorio (CECMED, 2017; Saavedra Guzmán, 2019).

La limpieza y la desinfección son procedimientos de gran importancia, ya que permiten controlar la presencia de microorganismos sobre las superficies. Cada uno de los aspectos de la fabricación de productos farmacéuticos debe ir acompañado de un elevado nivel de saneamiento e higiene, por lo que es sumamente importante la limpieza de las áreas. Estas deben limpiarse completamente en la frecuencia planificada, antes de realizar la desinfección, porque la suciedad puede hacer más difícil que las sustancias químicas actúen eficientemente sobre los microorganismos (United States Pharmacopea, 2023a).

Para que cada una de las actividades del laboratorio pueda realizarse con éxito, se debe disponer de equipos de medición con rango y precisión adecuados y calibrados sobre la base de un programa establecido, algunos ejemplos de estos equipos son las balanzas, medidores de pH, incubadoras, autoclaves, hornos y cabinas de seguridad biológica (CECMED, 2017). Es de suma importancia inspeccionar los equipos y detectar las fallas en su fase inicial, corrigiéndolas oportunamente. Esto implica reparaciones, ajustes, limpieza y calibración. Con estas acciones se pueden prevenir riesgos de seguridad, proteger a los trabajadores de posibles peligros, que los equipos operen en mejores condiciones porque se conoce su estado y lograr mayor confiabilidad (Garza, 2021).

La calibración es sumamente importante ya que muchos equipos se exponen al deterioro de sus funciones debido al envejecimiento de los componentes, las variaciones de temperatura y el estrés mecánico al que están sometidos. Entre sus principales beneficios está mantener y verificar el funcionamiento adecuado, responder a los requisitos establecidos por las normas de calidad, reducir los costos analíticos y aumentar la productividad, garantizar la fiabilidad y trazabilidad de las medidas, incrementar la vida útil del equipo (Garza, 2021).

Según Velasco (2023), otros pilares fundamentales en la industria farmacéutica para garantizar la calidad de los medicamentos son la validación y calificación. Estos procesos son esenciales para cumplir con las normativas y estándares internacionales. La calificación es un componente de la validación; es un proceso de garantía para que sistemas, instalaciones o equipos específicos, demuestren que funcionan correctamente y puedan conseguir los criterios de aceptación predeterminados (CECMED, 2017). La validación se aplica a los procesos y procedimientos, está pensada para demostrar de una manera documentada que los procesos, métodos, ensayos, actividades y equipamientos producen consistentemente resultados que cumplen con los estándares preestablecidos, garantizando que el producto final sea seguro y eficaz para su uso previsto (LFA Tablet Presses, 2025). La principal diferencia entre la calificación y la validación radica en su enfoque ya que la calificación se centra en los procesos y equipos utilizados en la fabricación, mientras que la validación se dirige a la eficacia del producto final (Velasco, 2023).

A los equipos e instrumentos de medición se les deben realizar tres procesos de calificación: de la instalación, de la operación y del desempeño. La calificación de la instalación demuestra que el equipo tiene completa su documentación técnica, posee los parámetros exigidos por el proceso y ha sido instalado de acuerdo a las recomendaciones de su fabricante. La calificación de la operación demuestra que el equipo opera consistentemente de acuerdo a lo especificado en su documentación técnica. La calificación del desempeño demuestra que los patrones de carga sometidos al proceso de esterilización reciben una cantidad de calor suficiente para eliminar toda forma de vida microbiana. La calificación del diseño puede ser omitida, ya que las calificaciones mencionadas anteriormente, pueden ser consideradas como indicadores suficientes de su diseño adecuado (CECMED, 2017).

La modernización del equipamiento de esterilización, como las autoclaves que utilizan sistemas críticos (agua purificada y vapor puro) de calidad superior, permiten el cumplimiento de las exigencias de las BPL, aumentan la capacidad de trabajo y mejoran el control y trazabilidad de los parámetros de esterilización. Además, las autoclaves automatizadas permiten el diseño de ciclos de esterilización con diferentes parámetros de temperatura y de tiempo y garantizan la calidad del proceso para diferentes tipos de materiales, registrando y almacenando en la memoria de forma electrónica los datos de los sensores en cada ciclo de esterilización (Muñoz González y otros, 2018; Organización Panamericana de la Salud, 2013). Para instalar una nueva autoclave de esterilización por vapor primero se debe evaluar los riesgos. Estos se relacionan con una situación, evento o escenario donde un peligro reconocido puede resultar en daño. Para ello, se puede utilizar la técnica de Análisis de Modos y Efectos de Fallas - FMEA (Sandle, 2015).

Según las Directrices de Buenas Prácticas Farmacéuticas (CECMED, 2017), los laboratorios de microbiología también deben contar materiales de referencia, reactivos, medios de cultivos y consumibles adecuados, ya que estos también pueden influir en los resultados de los ensayos analíticos. La calidad de los reactivos y medios de cultivo tiene que ser apropiada, para su adquisición se debe contar con el certificado de calidad correspondiente. No se deben usar vencidos y es necesario que su manipulación, control y almacenamiento sea de forma cuidadosa.

Los medios de cultivo son un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para sostener la multiplicación (con o sin inhibición de determinados microorganismos), la identificación o la preservación de la viabilidad de los microorganismos. Según su consistencia física se pueden clasificar en medios líquidos (caldos), medios sólidos (agares) y medios semisólidos (Oficina Nacional de Normalización, 2021), estos se pueden preparar a partir de los medios de cultivo deshidratados. La disolución del medio deshidratado en agua purificada, se denomina reconstitución (Sánchez Muñoz, 2022) y se deben documentar todos los datos del lote, tales como: identificación, fecha de preparación, condiciones de esterilización, masa/volumen, pH, fabricante y fecha de vencimiento del medio de cultivo deshidratado usado, así como el operario que lo preparó (Monge Montero, 2017; Oficina Nacional de Normalización, 2021).

Después de preparados, los medios de cultivo deben ser esterilizados, para que el resultado sea confiable y el crecimiento obtenido sea de la muestra sembrada y no de una contaminación. Considerando que, en largos períodos de almacenamiento los medios de

cultivo se deterioran, debido a la deshidratación, a cada lote preparado se le debe realizar un control de la calidad, que incluye la medición del pH, prueba de esterilidad, capacidad de crecimiento y reacción, aspecto, dureza y profundidad del agar (Sánchez Muñoz, 2022; Villalba González, 2020). El tiempo de vigencia de los medios de cultivo lo determina cada laboratorio mediante los resultados obtenidos en las pruebas de pH, aspecto, esterilidad, promoción de crecimiento y propiedades indicadoras durante cada período de evaluación (Sánchez Muñoz, 2022).

Para garantizar la trazabilidad de sus resultados, los laboratorios deben utilizar materiales de referencia certificados y cepas de referencia de microorganismos, obtenidos de una colección internacional reconocida. La trazabilidad es necesaria tanto para calificar, verificar y calibrar equipos, como para establecer el desempeño de los medios, realizar controles positivos y las pruebas de promoción de crecimiento (CECMED, 2017; Organización Panamericana de la Salud, 2013).

A nivel internacional existen colecciones caracterizadas de las cepas microbianas como por ejemplo la *American Type Culture Collection* (ATCC). Estas cepas son puras, bien caracterizadas, lo que garantiza su autenticidad y trazabilidad en los experimentos y pruebas microbiológicas (ATCC, 2022). La preservación y la conservación microbiana de estas cepas constituye un paso importante para asegurar su mantenimiento de ellas (Acosta Ovallos, 2019). Durante la manipulación de material biológico se debe tener cuidado especial para evitar problemas como contaminación, roturas de recipientes con cultivos microbianos, formación de aerosoles o derrame de líquidos contaminados. Para prevención de la contaminación deben ser utilizadas técnicas asépticas, que incluyen la realización de todo el trabajo en las cabinas de seguridad biológica, uso de equipos de protección individual y descontaminación final de todos los materiales y equipos utilizados. El acceso a los laboratorios donde se manipula material biológico debe ser limitado y estrictamente controlado (ATCC, 2022; Sandle, 2018).

Diagnóstico inicial de la fase preanalítica en los ensayos microbiológicos

Para la evaluación de la fase preanalítica se creó un equipo de trabajo con varios trabajadores de experiencia y con conocimientos en el tema, quedando conformado por el Jefe de la Planta de Control de la Calidad, Jefe del Departamento de Supervisión Técnica, Jefe del Grupo de Microbiología, la Especialista Principal del Laboratorio de Preparación de Materiales y Medios de Cultivo y varios trabajadores del Grupo de Microbiología. Las técnicas y herramientas para la evaluación fueron la tormenta de ideas, la matriz DAFO, el diagrama causa-efecto y el análisis de riesgos.

Se realizó un análisis interno (fortalezas y debilidades) y externo (oportunidades y amenazas) de la situación actual de la fase preanalítica de los ensayos en los laboratorios de microbiología.

Fortalezas:

1. Existe un personal capacitado con experiencia adquirida.
2. Instalaciones nuevas que cumplen las BPL.
3. Equipamiento moderno que facilita el cumplimiento de las BPL en los ensayos.

Debilidades:

1. Problemas con la disponibilidad de materiales y medios de cultivo.

2. Inadecuado diseño del área para la esterilización.
3. No disponibilidad de equipos fundamentales que cumplan con las BPL en la fase preanalítica de los ensayos.

Oportunidades:

1. Reconocimiento externo de los laboratorios debido a la acreditación de los ensayos por el Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba (ONARC).
2. Aumento de clientes de ensayos.
3. Crédito aprobado para la adquisición de nuevos equipos.

Amenazas:

1. Dificultad para la adquisición de reactivos y medios de cultivo en el mercado nacional.
2. Reorientación de los presupuestos para inversiones en equipamiento e instalaciones
3. Existencia de otros sectores con salarios más atractivos.

Los resultados de las interacciones (Fortalezas–Amenazas, Fortalezas- Oportunidades, Debilidades–Amenazas, Debilidades–Oportunidades) se muestran en la Matriz DAFO (Tabla 1). Se utilizó una escala de del 1 al 5

Tabla 1. Matriz DAFO

Parámetros		Amenazas			T	Oportunidades			T
Fortalezas		1	2	3		1	2	3	
	1	1	1	5	7	5	4	1	10
	2	1	5	2	8	5	5	3	13
	3	1	5	2	8	5	5	2	12
	T	3	11	9	46	15	14	6	70
Debilidades		1	2	3		1	2	3	
	1	5	1	1	7	3	4	1	8
	2	1	5	1	7	5	4	4	13
	3	1	5	1	7	5	5	5	15
	T	7	11	3	42	13	13	10	72

Al analizar los resultados de cada cuadrante, se observa que las cifras mayores pertenecen al segundo y cuarto cuadrante correspondiéndose con las estrategias ofensivas (posición en la que todo proceso quisiera estar, debe adoptar estrategias de crecimiento, maximizar el aprovechamiento de las oportunidades) y de reorientación (minimizar el efecto de las debilidades), llegándose a la conclusión que el laboratorio cuenta con grandes oportunidades como la aprobación para la adquisición de equipos fundamentales y la modificación de instalaciones, que debe ser utilizado como punto de apoyo para poder cumplir con las BPL en el área de esterilización y aumentar la eficiencia en el proceso preanalítico que favorece a la seguridad, confianza y aseguramiento de los ensayos microbiológicos.

Con la ayuda del Diagrama de causa-efecto (Figura 1) se graficaron las posibles causas que afectan el cumplimiento de las BPL en la fase preanalítica de los ensayos en los laboratorios de microbiología. Mediante una tormenta de ideas, el grupo de trabajo identificó las posibles causas y seleccionó las de mayor incidencia (sombreadas en la Figura 1).

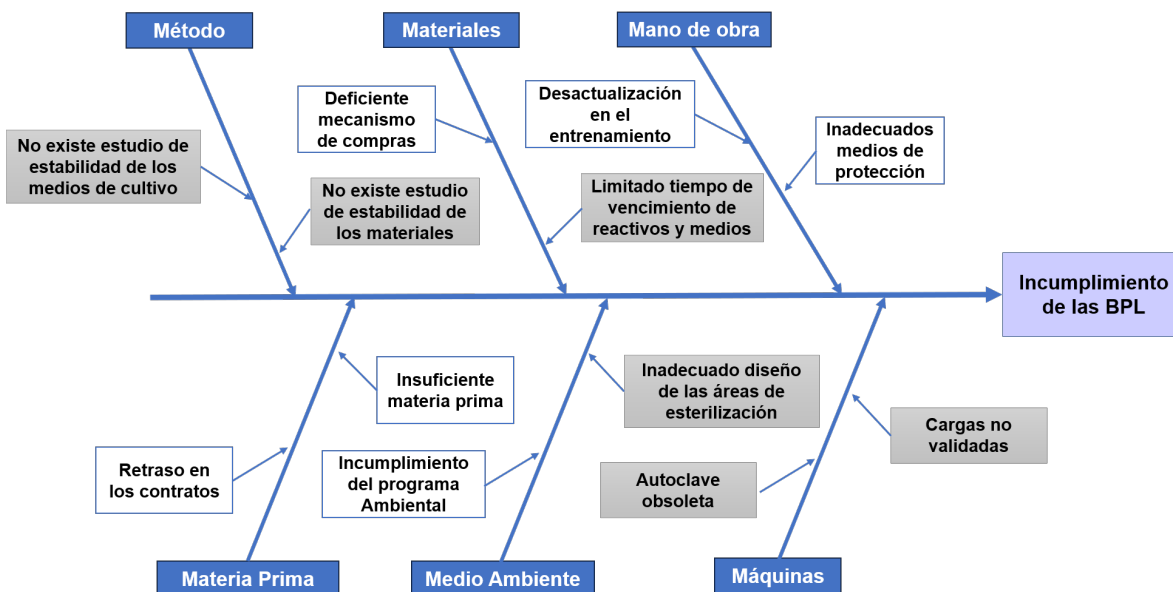


Figura 1. Diagrama Causa-Efecto

Mediante el método de Análisis de Modos de Fallas y Efectos (AMFE) se detectaron las principales fallas que afectan la calidad de la fase preanalítica de los ensayos microbiológicos, lo que permitió la estimación de los riesgos potenciales asociados a los peligros identificados. Para ello, se estableció un rango de valores para los parámetros Severidad, Ocurrencia y Detección (Tabla 2) y, por medio del número de prioridad de riesgo (NPR), se determina el alcance de las acciones, es decir, si son inmediatas, correctivas o preventivas (Tabla 3).

Para calcular el NPR se utilizó la fórmula:

$$NPR = S \times O \times D$$

Donde:

S= Severidad del impacto.

O= Probabilidad de ocurrencia de fallo.

D= Probabilidad de detección del fallo.

Tabla 2. Asignación de valores.

Rango de valores	Severidad (S)	Ocurrencia (O)	Detección (P)
9-10	Daño mayor/ muy alta severidad	Muy alta probabilidad de ocurrencia	Prácticamente imposible detectar
6-8	Inconveniente mayor	Alta probabilidad de ocurrencia	Baja capacidad de detección
3-5	Inconveniente menor	Moderada probabilidad de ocurrencia	Alta capacidad de detección
1-2	Efecto mínimo o sin efecto	Baja probabilidad de ocurrencia	Certeza de detección

Tabla 3. Resumen del alcance de las acciones.

NPR	Clasificación del riesgo	Alcance de las acciones
< 42	No impacta	No requiere acción inmediata.
42 a 143	Riesgo bajo	Acción de mejora, acción preventiva.
144 a 279	Impacto indirecto	Acción sobre los elementos involucrados.
> 279	Impacto directo	Requiere acción inmediata.

En la Tabla 4 se muestran los resultados obtenidos mediante el AMFE en el Laboratorio de Control Microbiológico, resaltando aquellos riesgos que deben ser atendidos con mayor prioridad en dependencia de su impacto sobre la calidad del servicio. Los riesgos identificados producen efectos de no calidad en el servicio del laboratorio.

Tabla 4. Resultados obtenidos en el análisis de riesgos

Etapas	Variables	Escenario de riesgo	S	O	P	NPR
Recepción de materiales	Recepción de medios de cultivo y reactivos	No disponibilidad por atrasos en las compras	10	5	1	50
Preparación de medios de cultivo (MC) y soluciones	Medición pH del agua	Falla en la medición	10	1	1	10
	Calibración del pH metro	No calibrado	10	1	1	10
	Medición conductividad del agua	Falla en la medición	10	1	1	10
	Calibración del conductímetro	No calibrado	10	1	1	10
	Fecha de vencimiento	MC vencido	8	8	3	192
	Peso del MC	Peso del MC incorrecto	10	1	1	10
	Calibración de la balanza	No calibrado	10	1	1	10
	Medición y ajuste de pH del MC	Falla en el ajuste de pH del MC	10	1	1	10
	Temperatura de esterilización	Temperatura incorrecta	10	5	8	400
	Programa de esterilización	Programa incorrecto	10	5	5	250
	Tiempo de esterilización	Tiempo de esterilización incorrecto	10	5	5	250
	Estado de validación de la autoclave	No validado	10	8	5	400
	Calidad de las cepas	Inóculo fuera del rango	10	4	1	40
	Temperatura de incubación	Temperatura incorrecta	10	1	1	10

Etapas	Variables	Escenario de riesgo	S	O	P	NPR
	Calibración de la incubadora	No calibrado	10	1	1	10
	Tiempo de incubación	Tiempo incorrecto	10	1	1	10
Preparación de materiales	Fregado de materiales	Limpieza inadecuada	10	1	4	40
	Temperatura de esterilización	Temperatura incorrecta	10	5	8	400
	Programa de esterilización	Programa incorrecto	10	5	5	250
	Tiempo de esterilización	Tiempo de esterilización incorrecto	10	5	5	250
	Estado de validación de la autoclave	No validada	10	8	5	400

Acciones de mejora de la fase preanalítica

Para implementar los cambios necesarios en la fase preanalítica de los ensayos microbiológicos se planificaron las acciones de mejora siguientes:

1. Sustituir la autoclave
2. Realizar estudio de estabilidad a los medios de cultivo preparados.
3. Realizar estudio del tiempo de vigencia de los materiales estériles.
4. Modificar la documentación correspondiente y elaboración de la Instructiva de uso del equipo.
5. Entrenar al personal.

El responsable de coordinar las actividades necesarias, para dar cumplimiento a las acciones de mejora planificadas, es el Jefe del Laboratorio de Preparación de Materiales. Se planificó un cronograma escalonado que abarcó el período 2022-2024.

Para sustituir la autoclave, se requirió realizar las actividades siguientes:

- Contratar el nuevo equipo a los proveedores evaluados.
- Modificar el área de esterilización del Laboratorio de Preparación de Materiales y Medios de Cultivo, ubicar la autoclave nueva y cumplir con los flujos de materiales.
- Calificar la instalación de la autoclave
- Programar los ciclos de esterilización según los medios de cultivo y materiales a esterilizar.
- Configurar las cargas máximas para diferentes ciclos de esterilización.
- Realizar la validación de desempeño de autoclave instalada.

A finales del año 2022, se concluyeron las tareas relacionadas con la instalación y puesta en marcha de la autoclave Fedegari en el Laboratorio de Preparación de Materiales de Control de la Calidad. La modernización del equipamiento de esterilización permite el cumplimiento de las exigencias de las Buenas Prácticas de Laboratorio. A partir de ese momento comenzaron a ejecutarse el resto de las acciones de mejora planificadas.

Para realizar el estudio de estabilidad los medios de cultivos fueron clasificados en tres grupos según su forma de presentación y su propósito:

- Medios de cultivo líquidos: Caldo Triptona Soya, Caldo Triptona Soya + Tween 80 y Lecitina C, Medio Fluido Tioglicolato, Medio Líquido Sabouraud, Caldo Cerebro Corazón, Caldo Cerebro Corazón + Glicerol 20%.
- Medios de cultivo agarizados en placa: Agar Triptona Soya, Agar Cetrimide, Agar Manitol Salado, Agar Dextrosa Sabouraud, Agar XLD.
- Medios de cultivo diferenciales en tubos: Agar Citrato Simmons, Agar Fenilalanina, Agar Lisina Hierro, Agar Urea, OF-Glucosa, Caldo Cerebro Corazón con NaCl 10%, Caldo Rojo Fenol, Caldo Rojo Fenol + Sacarosa, Caldo Rojo Fenol + Maltosa, Caldo Rojo Fenol + Lactosa, Caldo Rojo Fenol + Manitol, SIM, CTS con NaCl 6,5%, Agar Hierro Kligler, Agar Tres Azúcares Hierro.

El estudio de estabilidad se les realizó a los medios de cultivo preparados según las instrucciones del fabricante correspondiente con las condiciones descritas en la Tabla 5.

Tabla 5. Condiciones del estudio de estabilidad de los medios de cultivo.

Tipo de medios de cultivo	Frecuencia	Duración	Temperatura de almacenamiento
Medios de cultivo líquidos	Mensual	3 meses	Temperatura Ambiente Controlada
Medios de cultivo agarizados en placa	Mensual	3 meses	2 °C a 8 °C
Medios de cultivo diferenciales en tubos	Mensual	3 meses	Temperatura Ambiente Controlada

Para determinar el tiempo de vida útil de los medios de cultivo se evaluaron sus parámetros de calidad, siguiendo la norma NC-ISO 11133:2021 Microbiología de los Alimentos de Consumo Humano y Animal y del Agua - Preparación, Producción, Almacenamiento y Pruebas de desempeño de Medios de Cultivo (Oficina Nacional de Normalización, 2021). En esta etapa se obtuvieron los resultados siguientes:

- Los medios de cultivo mostraron una buena recuperación de crecimiento para todas las cepas de control utilizadas en diferentes cortes evaluativos.
- El análisis de la funcionalidad de los medios de cultivo demostró que se mantuvieron los Índices Relativos de Crecimiento (IRC) por encima del 70 % para las cepas de controles positivos, mientras que las cepas de controles negativos fueron inhibidas en todos los cortes evaluativos.
- Los medios de cultivo diferenciales durante 3 meses de almacenamiento mostraron respuestas bioquímicas correctas para los microorganismos específicos seleccionados como controles. Todos los medios de cultivo mantuvieron los valores de pH dentro del rango establecido para cada uno durante el estudio realizado.
- Teniendo en cuenta que para todos los medios agarizados en placas el indicador de reducción de peso alcanzó aproximadamente los 5 % durante 2 meses de almacenamiento, el estudio de estabilidad para los mismos fue detenido, quedando este tiempo establecido como máximo para su validez.

- Durante el periodo de almacenamiento en ninguno de los medios de cultivo estudiados fueron detectados signos de contaminación microbiana.
- Se determinó que durante 3 meses de almacenamiento en condiciones especificadas para medios de cultivo líquidos y medios de cultivo diferenciales en tubos, se mantienen todos los parámetros estudiados dentro de los límites establecidos.
- Se comprobó que para los medios de cultivo agarizados en placa, después de 2 meses de almacenamiento en condiciones especificadas, el parámetro de pérdida de peso se desplaza del rango establecido. Por lo que 2 meses de almacenamiento se estableció como tiempo de vigencia apropiado.

El estudio del tiempo de vigencia de los materiales estériles consistió en comprobar su esterilidad posterior a los 7 días de ser esterilizados en horno y autoclave. Para ello se realizó una clasificación de los materiales según sus características morfológicas y de resistencia térmica en cinco grupos. Para cada grupo se realizaron tres corridas de esterilización y de cada uno se analizó la esterilidad a una muestra con hora 0 y la otra después de estar almacenada durante 7 días a temperatura ambiente controlada (Tabla 6).

Tabla 6. Métodos de comprobación de la esterilidad de los materiales.

Tipo	Método	Incubación
Objetos pequeños	Inmersión en un recipiente con Caldo tripona Soya estéril.	7 días 20-25 °C 7 días 30-35 °C
Recipientes medianos tapados	Introducción de Caldo Triptona Soya estéril dentro del recipiente	
Cubeta	Enjuague con Caldo Triptona Soya estéril	
Pipetas	Enjuague con Caldo Triptona Soya estéril mediante succión y vaciado con ayuda de cargador de pipetas	
Equipo de filtración (Manifold de 6 plazas)	Simulación de filtración por membrana con un líquido estéril y transferencia de la membrana sobre una placa de Agar Triptona Soya	3 días 30-35 °C 3 días 20-25 °C

Los resultados del estudio de los cinco grupos de materiales esterilizados demostraron que independientemente de la forma de esterilización, los mismos conservan su estado después de los 7 días de esterilizados. Esto permite responder a las exigencias de Buenas Prácticas de Laboratorio y utilizar nuevos esquemas en la planificación de la esterilización de los materiales que optimizan el tiempo de operación y disminuyen los gastos relacionados con la frecuencia de uso de los equipos.

Se realizaron las modificaciones requeridas de la documentación correspondiente a los procesos sujetos a las acciones de mejora. De acuerdo con los resultados del estudio:

- En el procedimiento para la preparación de medios de cultivo se incorporó el tiempo de vigencia para los diferentes grupos.

- En el procedimiento de preparación de materiales se actualizó el tiempo de vigencia de algunos materiales y se incorporó el de otros.
- Se elaboró el procedimiento de operación y limpieza del nuevo equipo instalado, que incluye la información de ciclos de esterilización y cargas máximas validadas.

Además, teniendo en cuenta las modificaciones constructivas realizadas en el laboratorio debido a la instalación de la autoclave, se modificaron los flujos de materiales limpios y contaminados, debido a la separación de las áreas de esterilización y descontaminación de materiales.

Como acción final del plan, el especialista principal del Laboratorio de Preparación de Materiales desarrolló e implementó un programa de entrenamiento para la operación y seguridad de la autoclave. Todos los usuarios se entrenaron antes de operarla, asegurándose el responsable que cada persona en el laboratorio estuviera entrenada adecuadamente. Se impartió un curso interno de BPL para los Laboratorios de Microbiología, donde se trataron temas sobre los cambios introducidos al sustituir la autoclave GETINGE modelo GE 666 AC-1 por la autoclave horizontal con tecnología moderna FOF/2D (AUF21101F) y sobre el tiempo de vigencia de los medios de cultivo y materiales. Además, se impartieron seminarios y conferencias a los especialistas, técnicos y operarios de los Laboratorios de Microbiología sobre la mejora de la fase preanalítica y las ventajas de las acciones realizadas.

Como validación de los efectos de las acciones de mejora realizadas, se obtuvieron resultados satisfactorios en cinco auditorías a las BPL del CECMED. Otro efecto positivo fue la acreditación por el Órgano Nacional de Acreditación de la República de Cuba de otros dos ensayos microbiológicos: Pruebas de recuento microbiano y Pruebas de microorganismos específicos. Además, el análisis de los resultados obtenidos en los Laboratorios de Microbiología, evidenció que en 4379 muestras analizadas en el segundo semestre del año 2024 no hubo resultados falso positivos por la intervención de los materiales, cepas de referencia y medios de cultivo utilizados.

Para dar continuidad a este trabajo, se debe realizar estudio de estabilidad para determinar el tiempo de vida útil de las soluciones preparadas en los laboratorios, y continuar el seguimiento de los procesos del laboratorio para evaluar la calidad alcanzada.

CONCLUSIONES

El análisis del estado del arte realizado evidencia que, para garantizar la calidad de la fase preanalítica en los laboratorios de microbiología, así como la seguridad y eficacia de los resultados de los ensayos se deben implementar procesos optimizados, usar reactivos, materiales y equipos comprobados y validados, mantener la capacitación adecuada del personal, así como cumplir con las regulaciones y las normas de calidad. Sin embargo, las herramientas de calidad aplicadas en el diagnóstico inicial permitieron identificar incumplimientos de aspectos regulatorios para las BPL en la fase preanalítica de los ensayos microbiológicos en BioCen, fundamentalmente, la no disponibilidad de una autoclave que cumpliera con todas las exigencias requeridas, un inadecuado diseño del área de esterilización, no determinación del tiempo de vida para los materiales, medios de cultivo y soluciones.

Las acciones de mejora en la fase preanalítica de los ensayos microbiológicos estuvieron encaminadas a la instalación y puesta en marcha de una nueva autoclave, el estudio de estabilidad a los medios de cultivo preparados, el estudio del tiempo de vigencia de los materiales estériles, la modificación de la documentación vinculada a estas actividades y la preparación del personal para incorporar los cambios. Con estas acciones se obtuvo mejor calidad en los resultados del laboratorio, se lograron resultados satisfactorios en cinco auditorías del CECMED y la acreditación por ONARC de los ensayos Pruebas de recuento microbiano y Pruebas de microorganismos específicos.

AGRADECIMIENTOS

Las autoras desean expresar su agradecimiento a las profesoras Dr. C. Rosa Mayelin Guerra Bretaña y M. Sc. Rita Sosa Vera, por su asesoría metodológica en la realización de la investigación y por la revisión de esta publicación, que resume los resultados de una tesis del Programa de Maestría en Gestión de la Calidad y Ambiental de la Universidad de La Habana.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Acosta Ovallos, A. K. (2019). Evaluación de técnicas de conservación para microorganismos de importancia en microbiología industrial en el Cepario de la Universidad de Santander. [*Trabajo de Grado, Universidad de Santander UDES*]. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/a97bbcfca8da4a4e9399fe792ddcc345>
- Acosta Parra, E. P. (2014). Evaluación de la fase preanalítica como influencia en la confiabilidad de los resultados en el área de microbiología del Laboratorio Clínico AMBALAB. [*Tesis de Licenciatura, Universidad Técnica de Ambato*]. <https://es.studenta.com/content/132641109/tesis>
- ATCC. (2022). *Bacteriology Culture Guide*. <https://www.atcc.org/resources/culture-guides/bacteriology-culture-guide>
- CECMED. (2012). *Buenas Prácticas de Laboratorio para el Control de Medicamentos (Regulación No. 37-2012)*.
- CECMED. (2012a). *Directrices sobre Buenas Prácticas de Fabricación de productos farmacéuticos (Regulación No. 16-2012)*.
- CECMED. (2017). *Directrices Sobre Buenas Prácticas Farmacéuticas. Sistema Regulador en Cuba* (2da ed.). https://www.cecmec.com/sites/default/files/adjuntos/DocsLicencias/bpfarmaceuticas_0.pdf
- CROMTEK. (2023). *Control de la calidad en laboratorios farmacéuticos*. <https://www.cromtek.cl/2023/3/06/control-de-calidad-en-laboratorios-farmacuticos/>
- Garza, J. (2021). *La importancia de la calibración de equipos*. Analitek: <https://bloganalitek.com/la-importancia-de-la-calibracion-de-equipos-0>
- Guerra Bretaña, R. M., & Sosa Vera, R. (2020). Industria Médico Farmacéutica y Biotecnológica en Cuba. En R. M. Guerra Bretaña, *Gestión de la calidad, los riesgos y el conocimiento en la Industria Médico Farmacéutica y Biotecnológica. Compilación de estudios en Cuba* (págs. 4-17). Editorial Universitaria. <http://repositorio.eduniv.cu/items/show/3534>

- Lagomarsino, M. (2019). Sección VI. Aseguramiento de la calidad y Seguridad en el Laboratorio de Microbiología. En *Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéuticas, Cosmética y de Productos Médicos* (2da ed., págs. 528-630). Asociación Argentina de Microbiología.
- LFA Tablet Presses. (2025). *GMP Qualifications And Validations In The Pharmaceutical World*. <https://www.lfatabletpresses.com/it/articles/gmp-qualifications-validations-pharmaceutical-world>
- Monge Montero, A. C. (2017). Aseguramiento y control de calidad en la producción de medios de cultivo microbiológicos. *Revista del Colegio de Microbiólogos y Químicos clínicos de Costa Rica*, 23(2), 45-50. <https://revista.microbiologos.cr/articulo-anterior/revista-vol-23-n-2-2017/>
- Muñoz González, E., Enríques Gaspar, A., Díaz Concepción, A., Cruz Bayo, A., & Rodríguez Piñero, A. (2018). Análisis del proceso de esterilización por vapor en autoclaves. Caso de estudio. *Revista Cubana de Ingeniería*, 9(3), 3-10. <https://rci.cujae.edu.cu/index.php/rci/article/view/712/0>
- Nájera Sánchez, G., & Pérez Pacheco, C. (2019). *Microbiología farmacéutica*. Blog Laboratorios de Especialidades Inmunológicas: <https://lei.mx/2019/03/28/microbiologia-farmacéutica/>
- Oficina Nacional de Normalización. (2015). *Sistemas de gestión de la calidad —Requisitos (NC-ISO 9001)*.
- Oficina Nacional de Normalización. (2017). *Requisitos generales para la competencia de los laboratorios de ensayo y calibración (NC-ISO/IEC 17025)*.
- Oficina Nacional de Normalización. (2021). *Microbiología de los Alimentos de Consumo Humano y Animal y del Agua - Preparación, Producción, Almacenamiento y Pruebas de desempeño de Medios de Cultivo (NC-ISO 11133)*.
- Oficina Nacional de Normalización. (2022). *Laboratorios Clínicos - Requisitos para la calidad y la competencia (NC-ISO 15189)*.
- Oficina Nacional de Normalización. (2024). *Requisitos para la toma y el transporte de muestras para análisis en el laboratorio clínico (NC-ISO 20658)*.
- Organización Panamericana de la Salud. (2013). *Buenas prácticas de la OMS para laboratorios de microbiología farmacéutica (Red PARF Documento Técnico N° 11)*. <https://www.paho.org/sites/default/files/Red-PARF-No11Es.pdf>
- Saavedra Guzmán, S. C. (2019). Estudio de factibilidad para el montaje de un laboratorio de microbiología, acreditado en calidad según norma NTC/ISO 17025:2017. *[Trabajo de Grado, Universidad de Santander]*. <https://repositorio.udes.edu.co/entities/publication/0a11b34d-d995-4478-83ec-4fa5f9413e1c>
- Sánchez Muñoz, D. E. (2022). Evaluación del tiempo de vigencia del agar para pseudomona (PSP) y del agar F para pseudomona (PSF) almacenados en frasco. *[Tesis de Licenciatura, Universidad Peruana Cayetano Heredia]*. <https://hdl.handle.net/20.500.12866/11236>
- Sandle, T. (2015). Risk Considerations for Installation of a New Autoclave in a Pharmaceutical Manufacturing Facility | IVT. *Journal of Validation Technology*, 21(1), 1-10. <https://www.researchgate.net/publication/278243745>

- Sandle, T. (2018). *Microbiological Culture Media. A Complete Guide for Pharmaceutical and Healthcare Manufactures*. PDA Global Headquarters.
- SoftExpert. (2023). *Gestión documental y de capacitaciones para la industria farmacéutica: una combinación esencial*. <https://blog.softexpert.com/es/gestion-documental-y-de-capacitaciones-para-la-industria-farmaceutica/>
- United States Pharmacopeia. (2023a). Disinfectants and antiseptics. https://doi.org/https://doi.org/10.31003/USPNF_M99792_01_01
- Velasco, C. (2023). *Validación y Calificación en la Industria Farmacéutica*. Cercal Group: <https://cercal.cl/envinculo/validacion-y-calificacion-en-la-industria-farmaceutica/>
- Villalba González, W. (2020). Ensayo preliminar para la evaluación y control de calidad de medios de cultivo en Laboratorio de Aseguramiento de Calidad en Productos Naturales de la Sabana y sus matrices subordinadas controladas y filiales. [Trabajo de Grado, Universidad de Pamplona]. <http://repositoriodspace.unipamplona.edu.co/jspui/handle/20.500.12744/3353>