

Control microbiológico en sistemas de clean utilities

El comportamiento de las impurezas microbiológicas es fundamentalmente distinto al de las impurezas químicas, ya que no son homogéneas dentro del sistema. Mientras que los contaminantes químicos tienden a distribuirse de forma uniforme, los microorganismos suelen liberarse de manera localizada, generalmente desde biofilms específicos, lo que hace que los recuentos dependan en gran medida del punto y del momento del muestreo.

BWT

La liberación microbiana puede producirse de forma local o sistémica, y suele ser episódica y no continua, apareciendo y desapareciendo con el tiempo. En algunos casos se liberan células individuales, un fenómeno que normalmente no está relacionado con fuerzas de cizalla. En otros casos, se liberan flóculos de biofilm compuestos por múltiples células, que sí suelen estar asociados a fuerzas mecánicas o hidráulicas dentro del sistema. En cualquier caso, es importante recordar que los microorganismos planctónicos detectados en el agua siempre proceden de algún biofilm estacionario existente en el sistema.

Estos biofilms pueden encontrarse en diferentes ubicaciones: en las unidades de purificación, en el loop de distribución, el tanque o tramos muertos, dentro de una válvula de POU o de muestreo, o incluso en el conector entre la válvula del POU y el punto real de uso del agua. En función de su localización, los recuentos planctónicos pueden reflejar una contaminación sistémica, localizada o una combinación de ambas.

Interpretando los datos

La primera señal de un posible problema microbiológico suele manifestarse como un recuento microbiano elevado en uno o más puntos de uso. En el caso de sistemas de WFI, también puede observarse un incremento de endotoxinas sin recuentos microbiológicos detectables, lo que requiere una evaluación específica. Ante estos resultados, es fundamental determinar si se trata de un OOT (Out of Trend), una excursión de nivel de alerta o de acción o un OOS (Out of Specification), y definir si se aplica un enfoque de 2 niveles o 3 niveles (alerta y acción). En particular, la superación del Action Level en



un enfoque de tres niveles debe activar acciones no rutinarias, ya que indica una situación potencialmente más grave.

El patrón de los niveles elevados es la pista más importante para identificar el origen del problema. Un comportamiento intermitente en un mismo punto de uso suele indicar una causa local. Niveles intermitentes y variables en distintos puntos pueden sugerir problemas operativos o de muestreo. La detección de recuentos en un sistema caliente tiene un significado distinto y debe analizarse con cautela. En cambio, una tendencia continua y creciente en todos los puntos del sistema es indicativa de un problema sistémico, como el desarrollo de biofilm en el loop.

Ante cualquier desviación, debe considerarse que el resultado puede ser real o puede estar relacionado con el muestreo o el ensayo analítico. Por ello, es clave atacar el problema correcto y evitar reacciones excesivas

basadas en actividades inadecuadas. La interpretación debe basarse en los datos y en su tendencia, permitiendo que los datos “hablen” antes de tomar decisiones drásticas.

Es imprescindible eliminar el muestreo y el análisis como posibles causas antes de concluir que existe una contaminación real del sistema. Esto implica realizar los muestreos de forma consistente, correcta y cuidadosa, siguiendo procedimientos bien definidos. Además, hay que recordar que ciertos resultados, como la detección de Gram+, levaduras o mohos, difícilmente pueden tener su origen en el sistema de agua y suelen indicar problemas de muestreo, manipulación o análisis, más que una contaminación propia del sistema de clean utilities.

La localización de los recuentos microbiológicos proporciona información clave sobre el origen del problema. Los puntos en los que se detectan microorganismos suelen indicar el lugar por el que la contaminación sale aguas abajo del sistema, pero no necesariamente el origen real del biofilm. Por este motivo, es importante no asumir de forma inmediata que el punto de detección coincide con la fuente del problema.

Los recuentos localizados suelen estar asociados a biofilm localizado, que puede encontrarse en un único punto de uso o en un subloop concreto. Este tipo de contaminación indica un problema limitado, pero debe tratarse con precaución, ya que fuentes locales pueden evolucionar y dar lugar a un biofilm sistémico si no se controlan adecuadamente.

Por otro lado, los recuentos sistémicos pueden tener distintos orígenes. En algunos casos, pueden deberse a un biofilm localizado pero oculto, como un tramo muerto no identificado, que afecta a múltiples puntos. En el peor de los escenarios, los recuentos

elevados pueden indicar la presencia de un biofilm sistémico, lo que supone una situación crítica para el sistema. También debe considerarse la posibilidad de contaminación procedente del agua de entrada desde la cadena de purificación.

En todos los casos, la interpretación correcta requiere un análisis basado en datos y tendencias. Es fundamental evaluar patrones y evitar conclusiones precipitadas, asegurando que las decisiones se tomen sobre evidencias sólidas y no sobre suposiciones.

Causas

Los recuentos microbiológicos en sistemas de agua siempre tienen su origen en algún biofilm presente en alguna parte del sistema, aunque no sea visible o fácilmente identificable. El biofilm es prácticamente inevitable en sistemas de Clean Utilities, por lo que la estrategia correcta no es intentar eliminarlo por completo, sino anticiparse a su formación y controlarlo de manera proactiva mediante diseño, operación y mantenimiento adecuados.

Una causa frecuente del desarrollo de biofilm es un diseño o construcción deficientes del sistema. Elementos como superficies no sanitizables, grietas, tramos muertos, válvulas inadecuadas o configuraciones complejas favorecen la colonización microbiana. Asimismo, el uso de materiales de bajo coste puede limitar las opciones de sanitización disponibles. La ausencia de barreras microbiológicas en el agua de entrada, como radiación UV o filtros adecuados, así como una mala secuencia de válvulas, operación manual excesiva o puntos de uso permanentemente abiertos, incrementan significativamente el riesgo de contaminación.

El mantenimiento inadecuado es otro factor crítico en la aparición y persistencia del biofilm. Operaciones poco frecuentes como el contralavado, la regeneración o la sanitización de las unidades de purificación, así como un mantenimiento insuficiente del loop (fugas, juntas deterioradas), contribuyen al deterioro del control microbiológico. Además, una sanitización del sistema inadecuada o insuficiente permite que el biofilm se consolide con el tiempo, dificultando cada vez más su eliminación y aumentando el riesgo de contaminación recurrente.

La utilización inadecuada de los puntos de uso es una causa frecuente de proble-

mas microbiológicos. Un factor especialmente crítico es el uso de mangueras, que, si son demasiado largas, si se almacenan incorrectamente, si no se purgan antes de su uso o si no se renuevan con la frecuencia adecuada, se convierten en un foco de contaminación. Incluso cuando se realiza flushing, si este no es lo suficientemente intenso o si se hace de forma inconsistente —con velocidades inferiores a las recomendadas— el riesgo de desarrollo de biofilm sigue siendo elevado. A esto se suman problemas prácticos como la ausencia de desagües cercanos, recipientes inadecuados o deficiencias ergonómicas en la ubicación de los puntos de uso.

Otro aspecto relevante son las conexiones rígidas entre el anillo y los consumidores que presentan dificultades de drenaje, flushing o sanitización. Si estos elementos no están diseñados para ser completamente drenables, purgables y sanitizables, pueden convertirse en puntos críticos donde el biofilm se establece y persiste, afectando al control microbiológico del sistema.

Además, los problemas pueden verse agravados por una sanitización deficiente del sistema. La sanitización que no se realiza de forma rutinaria, sino únicamente tras superar un nivel de acción, es una mala práctica que favorece la consolidación del biofilm. Igualmente, una sanitización poco estricta —con letalidad insuficiente, concentraciones inadecuadas, tiempos de contacto cortos o sin recirculación— resulta ineficaz. Si el proceso no es completo, dejando zonas sin tratar como POU's o bypasses, o se realiza con una frecuencia inferior a la necesaria por estar limitada por la producción y no por la necesidad real del sistema, el riesgo de contaminación recurrente aumenta de forma significativa.

Remediación

La estrategia de actuación frente a una contaminación microbiológica debe depender del origen identificado durante la investigación, ya que solo una investigación bien enfocada permite aplicar acciones eficaces. Cuando la fuente está localizada, la prioridad debe ser sanitizar el área afectada, siempre que sea posible. Esto puede incluir la zona aguas abajo de un punto de uso, una manguera, un fregadero o desagüe sucio, un punto de uso que no cierra bien, un subloop

sin retorno adecuado o un sistema completo que opera incorrectamente.

Cuando no es posible actuar de forma localizada, o cuando los datos indican una contaminación sistémica, la única opción eficaz es la sanitización completa del sistema. En estos casos, el enfoque debe ser global y coherente, asegurando que todas las partes del sistema reciben el tratamiento necesario para eliminar el biofilm y reducir el riesgo de recurrencia.

La elección del agente sanitizante es un aspecto crítico y debe basarse principalmente en la compatibilidad con los materiales del sistema. El uso de materiales más económicos, como PVC o PP, puede limitar de forma significativa las opciones disponibles e incluso hacer que la sanitización sea impracticable. En cualquier caso, el objetivo debe ser aplicar el tratamiento más agresivo posible dentro de los límites del sistema, utilizando la mayor concentración compatible, el tiempo de contacto más largo posible y favoreciendo una circulación rápida y continua, evitando tratamientos por remojo que resultan menos eficaces para la eliminación del biofilm.

La selección del agente de sanitización es un factor determinante en la eficacia del control microbiológico y debe realizarse en función del tipo de contaminación, el estado del biofilm y la compatibilidad con los materiales del sistema.

- El calor, aplicado en forma de agua caliente (no como vapor, ya que si el sistema no está específicamente diseñado para ello no alcanzara todos los puntos del mismo), ofrece una excelente capacidad de penetración y una elevada letalidad frente a microorganismos y biofilm. Los valores D para *Pseudomonas aeruginosa* disminuyen significativamente con el aumento de la temperatura, pasando de varios segundos o minutos a 60–65 °C hasta apenas milisegundos a 75–80 °C. No obstante, aunque el calor es altamente letal, es poco efectivo contra el biofilm, por lo que en casos de biofilm espeso puede ser necesario un tratamiento posterior con agentes químicos específicos que disuelvan la matriz del biofilm.
- Los agentes cáusticos, como soluciones de NaOH o KOH al 0,5–1 %, son especialmente eficaces para eliminar biofilm, ya que disuelven el exopolímero que lo

protege, exponiendo y destruyendo las células microbianas. Este tipo de tratamiento, a menudo descrito como una “sanitización agresiva” del sistema, se utiliza cuando es necesario un control drástico del biofilm y el sistema es compatible con este enfoque.

- El ozono, utilizado a concentraciones residuales de 20–30 ppb, es una excelente herramienta preventiva frente a la formación de biofilm y permite sanitizaciones rutinarias frecuentes y eficaces. Sin embargo, incluso a concentraciones elevadas, su eficacia frente a biofilm ya establecido es limitada debido a su alta reactividad y pobre capacidad de penetración en la matriz del biofilm. Por este motivo, su uso se recomienda principalmente como medida preventiva más que correctiva.
- Las formulaciones basadas en peróxido de hidrógeno y ácido peracético (o similares), presentan una alta eficacia cuando se emplean a concentraciones adecuadas. Las mezclas concentradas, típicamente con una proporción aproximada de 5:1 de H_2O_2 respecto a ácido peracético, resultan muy agresivas incluso a diluciones de 1:100 y son compatibles con sistemas como la ósmosis inversa. En comparación, el uso de peróxido de hidrógeno o ácido peracético por separado, en rangos del 3 al 10 %, suele ser menos eficaz frente a biofilm maduro.
- Por último, el hipoclorito sódico, utilizado normalmente en concentraciones de 100 a 500 ppm, presenta una capacidad oxidante dependiente del pH, siendo menos efectivo a pH elevados. Aunque puede ser útil en determinadas aplicaciones, su eficacia frente a biofilm grueso es limitada. En todos los casos, debe tenerse en cuenta que cuanto más grueso y desarrollado sea el biofilm, menor será la probabilidad de que la sanitización tenga éxito, lo que refuerza la importancia de la prevención y del control temprano.

Cuando se utiliza el mismo agente sanitizante tanto para la desinfección rutinaria como para la correctiva, es imprescindible analizar qué fue inadecuado en el tratamien-

to previo. En muchos casos, el problema no reside en el tipo de sanitizante, sino en cómo se aplicó. El tratamiento puede haber sido insuficiente en términos de concentración, temperatura o tiempo de contacto, o bien no haber alcanzado de forma efectiva todas las superficies del sistema.

En estas situaciones, el mismo sanitizante debería emplearse de manera más estricta y exigente. Esto implica aumentar la concentración o la temperatura, prolongar el tiempo de contacto, y asegurar una cobertura completa de todas las superficies, incluyendo el flushing de todas las válvulas y el uso de sistemas de aspersión en los depósitos. Asimismo, es fundamental garantizar una



circulación continua y rápida, evitando tratamientos estáticos por remojo, ya que el estancamiento reduce significativamente la eficacia frente al biofilm.

Si estas medidas no resultan suficientes, debe considerarse el uso de un enfoque diferente y más agresivo. En estos casos, puede ser necesario aplicar una sanitización intensiva del sistema con el objetivo de dejarlo casi estéril en todas sus partes, lo que coloquialmente se describe como “resetear” el sistema. Este tipo de actuación no suele considerarse adecuada para el control rutinario, ya que es compleja, prolongada, altamente intrusiva y presenta dificultades en la gestión y eliminación de residuos, pero puede ser necesaria como medida correctiva excepcional para recuperar el control microbiológico.

Tras cualquier intervención, es imprescindible realizar un seguimiento para asegurar la eficacia de la sanitización. La interpretación de los resultados microbiológicos posteriores permite evaluar si la acción aplicada

ha sido adecuada y si el sistema se encuentra realmente bajo control.

Si los recuentos no son cero inmediatamente después de la sanitización, esto indica que no todo el biofilm ha sido eliminado y que el proceso de sanitización ha sido insuficiente. En estos casos, también debe considerarse la posibilidad de una reinoculación continua procedente de la cadena de purificación o de un punto de uso, lo que impediría alcanzar un estado controlado aun después de una intervención correctiva.

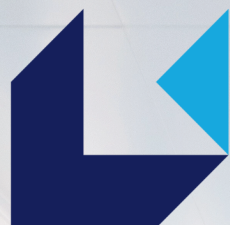
Cuando los recuentos son cero tras la sanitización, pero vuelven a ser elevados en un plazo corto, por ejemplo, en una semana, suele significar que solo se ha eliminado la capa superficial del biofilm, permitiendo una rápida regeneración de los microorganismos supervivientes. Este comportamiento es típico de biofilms maduros que no han sido completamente erradicados y puede generar lecturas muy elevadas en periodos cortos, poniendo en riesgo toda la producción de la factoría.

En cambio, si los recuentos son cero tras la sanitización y se mantienen en cero en el tiempo, puede concluirse que el biofilm ha sido completamente eliminado y que se ha evitado con éxito cualquier reinoculación desde el sistema o desde el agua de entrada. Este es el escenario deseado y confirma la eficacia de las acciones implementadas.

Por último, si tras la sanitización los recuentos siguen apareciendo de forma esporádica, esto suele indicar que la sanitización del sistema no ha sido suficientemente robusta, o bien que persisten problemas de reinoculación continua o deficiencias en el muestreo o en el ensayo analítico. En estos casos, es necesario revisar tanto la estrategia de sanitización como las prácticas de muestreo para identificar y corregir la causa raíz.

Prevención

La prevención es mucho más sencilla y eficaz que la remediación en el control microbiológico de los sistemas de agua. Cuando la gestión se basa únicamente en reaccionar ante los problemas, estos tienden a repetirse de forma continua. Un biofilm bien desarrollado es extremadamente difícil -y en algunos casos prácticamente imposible- de eliminar por completo mediante sanitización química.



KUBEX PHARMA

By Lapeyra & Ingelyt

Cleanrooms and Technology Solutions



www.kubex.es



Compromiso



Innovación



Transparencia



Creatividad



Profesionalidad



Personalización

ca, lo que convierte la reacción tardía en una estrategia poco eficaz.

La resolución reactiva de problemas suele implicar paradas no programadas del sistema, que consumen mucho tiempo y generan costes muy elevados debido a la pérdida de tiempo de fabricación. A esto se suman los costes adicionales de mano de obra necesarios para la investigación y la remediación del problema. Estas actividades imprevistas suelen provocar retrasos en otras tareas, generando una acumulación de trabajo que puede derivar en nuevos problemas a medio y largo plazo.

Además, la gestión reactiva incrementa los costes de laboratorio, ya que el personal suele estar ya muy ocupado y debe asumir una carga de trabajo adicional. Esto puede conducir a horas extra no deseadas, desgaste del personal, necesidad de formar nuevo personal y una mayor probabilidad de errores. Por último, existe el riesgo añadido de fabricar producto fuera de especificación antes de detectar el problema, con el consiguiente impacto económico y regulatorio. Por todo ello, un enfoque preventivo, basado en diseño adecuado, control continuo y mantenimiento proactivo, resulta claramente más eficiente y sostenible.

La prevención también requiere una monitorización frecuente del sistema, que permita detectar tendencias negativas de forma temprana, antes de que se conviertan en desviaciones significativas. El uso de niveles de control de proceso basados en tendencias, como los enfoques de 3 niveles, proporciona una herramienta eficaz para anticiparse a los problemas. En definitiva, cuando el biofilm deja de ser un problema, se eliminan también los problemas de producto, garantizando la continuidad operativa, la calidad y el cumplimiento regulatorio.

Para evitar la recurrencia de problemas microbiológicos, es fundamental ajustar el programa de sanitización rutinaria del sistema. Esto implica hacer los tratamientos más intensos, más largos, más completos y más frecuentes, de acuerdo con las necesidades reales del sistema y no únicamente con limitaciones operativas o de producción. Un programa de sanitización bien ajustado permite mantener el biofilm bajo control y reducir el riesgo de desviaciones microbiológicas.

Asimismo, es imprescindible eliminar los defectos de diseño que contribuyen a la contaminación. La sustitución de válvulas

no sanitarias por válvulas de diafragma, la eliminación de tramos muertos o su correcta gestión mediante flushing regular, y la inclusión de conexiones rígidas dentro de los ciclos de sanitización son medidas clave para reducir los puntos donde el biofilm puede establecerse y persistir.

Otro aspecto crítico es la reducción de la propagación planctónica, ya que las bacterias libres en el agua pueden dar lugar a la formación de nuevos biofilms. Para ello y según el diseño del sistema, pueden implementarse barreras microbiológicas como UV en línea en el bucle, tanques ozonados, pasteurización continua de los bucles ($>60^{\circ}\text{C}$), o medidas de control a la salida de los generadores como radiación UV.

Por último, debe prestarse especial atención a la gestión de mangueras, mejorando su almacenamiento, mantenimiento y manipulación. Una gestión adecuada de las mangueras reduce significativamente el riesgo de contaminación localizada y evita que se conviertan en un vector de introducción y propagación de microorganismos dentro del sistema.

Fuentes exógenas

No debe olvidarse la existencia de fuentes de contaminación ajenas al propio sistema, ya que muchos resultados anómalos tienen su origen en prácticas de muestreo inadecuadas. Por este motivo, el muestreo debe reproducir fielmente las condiciones reales de uso en fabricación, especialmente en los puntos de uso (POU). Esto implica aplicar el mismo flushing, utilizar la misma manguera y respetar las mismas condiciones de sanitización del punto de salida o del extremo de la manguera, si estas existen en operación normal.

En algunos casos, especialmente cuando se utilizan puertos de muestreo dedicados, pueden requerirse medidas más estrictas que en el uso rutinario. Debe prestarse especial atención a los puertos de muestreo integrados en válvulas de POU, ya que pueden no ser representativos de la calidad real del agua utilizada en proceso. Por ello, es importante definir claramente el grado de apertura

de la válvula, la velocidad del flujo y el tiempo o volumen de purga antes de la toma de muestra.

Durante el muestreo, no debe adaptarse el flushing al tamaño del recipiente de recogida. Por el contrario, debe adaptarse el recipiente al flushing requerido. Para una purga eficaz, se recomiendan velocidades iguales o superiores a 1 m/s durante al menos 30 segundos, con el objetivo de desprender biofilm suelto. En situaciones de muestreo en áreas no controladas o en puntos de uso de difícil acceso, puede ser necesaria la monitorización ambiental como apoyo. Finalmente, una buena práctica adicional consiste en flushing del punto de uso con alcohol después de su utilización, ya que este desplaza el agua residual y reduce el riesgo de contaminación posterior.

Además de las fuentes propias del sistema, es esencial considerar posibles causas externas relacionadas con las prácticas de ensayo, ya que una parte significativa de los resultados atípicos puede originarse en el laboratorio. La mejora de las prácticas de análisis comienza con un buen orden y limpieza del laboratorio, incluyendo el mantenimiento adecuado de cabinas de bioseguridad y campanas de flujo laminar, ya que estos entornos influyen directamente en la calidad y fiabilidad de los ensayos microbiológicos.

Las buenas prácticas operativas del personal son igualmente determinantes. El uso frecuente de alcohol sobre los guantes, una planificación ergonómica y logística adecuada de los ensayos para minimizar el contacto con superficies no sanitarias una vez iniciada la prueba y la no reutilización de utensilios o componentes entre ensayos son medidas clave para reducir el riesgo de contaminación cruzada.

Por último, el uso intensivo de monitorización ambiental y de placas de sedimentación durante los ensayos y entre el analista y la muestra proporciona información valiosa para interpretar los resultados. Estos datos permiten exonerar o identificar al laboratorio como posible origen del problema y ayudan a detectar áreas, prácticas o personal que requieran mejoras, reforzando así la fiabilidad global del control microbiológico ●

Este artículo está extraído del libro "Clean Utilities. Diseño y Control" de Santiago Fernández publicado por BWT. Puedes solicitar una copia gratuita aquí: <https://www.libro-clean-utilities.com/>

IMCO

PROCESS & PACKAGING



Proveedores globales de proceso y envasado
para la industria química y farmacéutica



www.imco.es

más información



IMCO Process & Packaging | Còrsega 381 - 08037 Barcelona | 934 572 800 | imco@imco.es