

1. OBJETIVO

Presentar lineamientos generales para desarrollar operativamente los mandatos revistos en la resolución 5108 de 2005 y demás normativa aplicable.

2. ALCANCE:

Aplica para todos los bancos de tejidos en todas las actividades que les son propias.

3. DOCUMENTOS DE REFERENCIA / MARCO LEGAL O NORMATIVO

- Decreto 2493 de 2004, “Por el cual se reglamentan parcialmente las Leyes 9ª de 1979 y 73 de 1988, en relación con los componentes anatómicos”.
- Resolución 5108 de 2005, “Por la cual se establece el Manual de Buenas Prácticas para Bancos de Tejidos y de Médula Ósea y se dictan otras disposiciones”.

4. MARCO GENERAL

En las Buenas Prácticas para Bancos de Tejidos el macro proceso de control de calidad, es entendido como el conjunto de ejercicios tendientes a demostrar que se cumplen estándares técnicos y requisitos reglamentarios en por lo menos dos ámbitos:

- En los procesos: áreas, personal, equipos, materiales, actividades
- En los productos: entendido como la medición de lo obtenido en la salida de cada una de las etapas incluyendo producto final,

El primer capítulo de consideraciones generales tomará como referente principal entre otros, el documento de Buenas Practicas emitido por los bancos de tejido en conjunto con las autoridades de salud de la Unión Europea[1] citando cada apartado para permitir al lector evidenciar la existencia de lineamientos expresos que son válidos en tanto fueron obtenidos por consenso de expertos y no se oponen a la normativa nacional vigente o a lo encontrado en la revisión de artículos indexados realizada como complemento a fin de orientar a los interesados para que el enfoque del control de calidad integre todos los elementos que le corresponden. Estas normas hacen referencia a directrices propias de las diferentes organizaciones de bancos de tejidos en el mundo y a otras propias de la industria farmacéutica.

Algunos otros documentos de referencia como las guías de la AABT contienen detallados los aspectos operativos por lo cual el presente documento no presentara las técnicas propuestas en dichos documentos que, tratándose de métodos analíticos refiere en su mayoría a lo previsto por FDA que remite a las pruebas normalizadas del Codex de Regulaciones Federales de los Estados Unidos CFR mismas que se derivan la aquellas previstas en la Farmacopea de ese país USP Pharmacopoeia. Así se insta a los interesados a verificar sus procedimientos contra los estándares propuestos para los bancos de tejidos y en lo que se refiere a las técnicas analíticas, establecer el grado de concordancia con lo aplicable según los lineamientos específicos citados, la normativa globalmente aceptada y la regulación local.

Se tomarán en cuenta algunos factores que pueden afectar los resultados de las pruebas microbiologías como algunas actividades de preservación referidas a la temperatura de transporte en las diferentes etapas, el uso de sustancias desinfectantes o antibióticas, los tiempos de cuarentena entre otros aspectos por lo cual se puede encontrar en el texto estándares fuera de los cuales se podrá ver afectado el resultaos de los controles microbiológicos.

Finalmente, el lector encontrará algunos ejemplos prácticos tomados de papers actuales obtenidos a partir de revistas indexadas, permitirán evidenciar como se llevan a cabo en países de referencia las actividades de control de calidad.

Este documento es de carácter orientativo y no pretende exhaustividad conteniendo los mínimos legales, es decir, intenta desarrollar los mandatos de ley previstos en la normativa vigente, de manera que podrán incorporarse adicionalmente más controles.

5. CONTENIDO

CAPITULO 1: CONSIDERACIONES GENERALES

El control de calidad microbiológico debe partir del conocimiento amplio del proceso, dentro de un enfoque de riesgo definido para establecer:

- Puntos críticos de control del proceso
- Puntos críticos de control del producto
- Definición de especificaciones técnicas y requisitos legales (de los proceso y producto)
- Validaciones necesarias para incorporar lo validado al quehacer (en los procesos y productos) mediante el establecimiento de procedimientos de trabajo.
- Verificación constante de que lo definido en los procedimientos se ejecuta conforme a lo definido (adherencia).
- Comprobación de que se llevan a cabo procesos estandarizados para obtener productos que cumplen especificaciones de calidad DEFINIDAS (controles de calidad).

Así mismo respecto del control microbiológico se indica que la seguridad microbiológica de los tejidos y las células se basa en:

- Selección adecuada de donantes y control (ausencia) de contaminación inicial;
- Control y seguimiento de la contaminación durante el proceso;
- Controles del entorno de los donantes
- Validación de los Controles de Calidad para descontaminación, esterilización o inactivación durante el procesamiento de tejidos y células;
- Realización de exámenes bacteriológicos realizados en diferentes etapas del proceso.

Estos Controles microbiológicos deben centrarse en los mohos/levaduras, microorganismos aeróbicos y anaeróbicos. Si los factores de riesgo están presentes, es deseable realizar pruebas adicionales para la detección de micoplasma. Se indica a modo general que dichos controles deberán efectuarse en:

- El tejido de partida o de entrada;
- El tejido inmediatamente antes del embalaje final;
- Después de una etapa de descontaminación o esterilización (control directo o control de monitoreo).

Una revisión sistemática de la calidad del producto/ de la calidad del proceso es obligatoria en el marco de un SGC robusto y estable por lo cual debe disponer de procesos para revisar el rendimiento del sistema de gestión de la calidad para garantizar una mejora continua ;realizar exámenes periódicos de calidad de todos los tejidos y células, con el objetivo de verificar la coherencia del proceso existente, verificar si se cumplen las especificaciones tanto para los materiales de partida como para los tejidos terminados evidenciando tendencias para corregir o mejorar los procesos. Esas evaluaciones acumulativas para evaluar tendencias (estudios retrospectivos) “deberían realizarse y documentarse anualmente; “sin embargo bajo un enfoque de riesgo estas periodicidades pueden acortarse y en todo caso documentarse y establecer medidas preventivas y correctivas, midiendo su eficacia en el tiempo e incluso considerar realizar una nueva validación a los procesos.

Las BP europeas para bancos de tejidos sugieren tener en cuenta al menos las siguientes cuestiones:

- Evaluaciones previas
- Examen de las instalaciones seguimiento microbiológico incluyendo materiales;
- Revisión de los casos de contaminación de las células causados por operadores, materiales o instalaciones;
- Examen de los tejidos y/o casos de contaminación de células causados por el propio donante;
- Revisión de la contaminación cruzada cuando proceda;
- Revisión de los puntos de control críticos de calidad;

Los controles de calidad no deben ser vistos aisladamente sino diseñarse y ejecutarse dentro de un contexto Los controles microbiológicos se relacionan con varias actividades en diferentes momentos. De esta manera se intercepta el control de calidad del producto en relación con los controles al proceso.

La presente guía enfatiza en los controles microbiológicos, pero incluye otras variables destacadas como la temperatura asociada al periodo de vida útil de los tejidos que podrán indistintamente ser llamados para los fines de este documento como “productos”

CAPITULO II: CONTROLES AL PROCESO

1. Control de áreas:

Permiten garantizar que las áreas cuenten con especificaciones conforme a las actividades realizadas en cada una según estándares normativos y/o legales y que son liberadas para su uso por el personal responsable solo si tales especificaciones se cumplen.

Un plan de saneamiento e higiene bien estructurado permite junto con otras actividades prever que se mantendrán cargas de contaminación aceptables para lo cual tales limites deben ser establecidos y verificados mediante controles adecuados.^[2]

Al respecto las BP Europeas disponen para esta actividad medidas importantes:
“El seguimiento debe realizarse periódicamente para detectar el desarrollo de cepas resistentes. 2. Los desinfectantes y detergentes deben ser verificados para detectar contaminación microbiana; las diluciones deben conservarse en recipientes limpios y solo deben almacenarse durante períodos definidos, a menos que se esterilizan. Los desinfectantes y detergentes utilizados en las áreas de grado A y B deben estar estériles antes de su uso. 3. La fumigación de zonas limpias puede ser útil para reducir la contaminación microbiológica en lugares inaccesibles. 4. Deben especificarse los límites microbiológicos máximos permitidos para cada grado de limpieza después de la limpieza y el saneamiento.”

De lo anterior se concluye la importancia de caracterizar las áreas antes de la intervención con el desinfectante y de validar la utilidad y la inocuidad de estos productos dentro de las actividades propias del banco y en todo caso garantizando que se cumplen las especificaciones de uso del fabricante. Así mismo la preparación de las diluciones de desinfectantes, el lavado de materiales es un punto de no poca relevancia por lo que las BP europeas indican que las tuberías de agua destiladas, desionizadas y otras tuberías de agua “deben desinfectarse de acuerdo con procedimientos escritos que detallen los límites de acción para la contaminación microbiológica y las medidas que deban adoptarse”. Así mismo la calidad del agua conforme su participación en los procesos críticos deberá ser evaluada.

Según las Buenas Practicas para Bancos de Tejidos de la Comunidad Europea^[3], documento eminentemente técnico las especificaciones de los controles microbiológicos medio ambientales se definirán conforme a las necesidades de la operación del banco citando diferentes técnicas Es de aclarar que no todas son útiles para toda actividad por lo que deberá verificarse las limitaciones de los métodos de muestreo y el alcance dado por la sensibilidad de la técnica para medir lo que pretende ser evidenciado. Es así como la colocación de placas de sedimentación, toma de aire por técnicas volumétrica y el muestreo de superficies debe definirse rigurosamente conforme a la técnica analítica oficial o normalizada que sea previsto utilizar.

Existen métodos de muestreo de partículas que la OMS^[4] recomienda, no en especifico para los tejidos de origen humano pero como se comprueba reiteradamente, las especificaciones para productos de alto riesgo son aplicables siempre que se validen debidamente.

Este organismo establece aspectos importantes como:

La cualificación del personal que ha de tomar y analizar las muestras de aire con “formación y habilidades para realizar la actividad.”

- Las partículas deben medirse con un instrumento diseñado para detectar partículas en el aire de tamaños definidos en un entorno de sala limpia. El instrumento debe tener un certificado de calibración válido, con la frecuencia de calibración dependiente de: tipo de instrumento y su uso; las instrucciones del fabricante para la calibración y la configuración. Partículas viables y no viables deben analizarse para verificar que se encuentren dentro de los rangos establecidos según la clasificación del área realizada y validarlos para los dos tamaños de partícula básicos.

-Las muestras deben tomarse aproximadamente a niveles de trabajo (valor de orientación: dentro de 30 cm de las operaciones); y donde los filtros HEPA están ubicados lejos de las operaciones, o donde es probable que los objetos generen un flujo turbulento, la calificación de los filtros HEPA puede no ser representativo del grado del área de la sala limpia. En tales casos, adicionalmente se debe realizar un muestreo que cubra ese aspecto.

- En lo posible utilizar contadores de partículas exclusivos para cada área o establecer medidas para evitar la contaminación cruzada



Para la OMS se pueden distinguir dos tipos de muestreo de partículas, clasificación de sala limpia y la Cualificación y seguimiento ambiental rutinario de sala limpia según ISO 14644-1.

Para la clasificación se miden varios parámetros de la sala limpia, incluida la capacidad del sistema HVAC para alcanzar y mantener los límites de sala limpia para partículas en el aire y se establecen los métodos de muestreo de partículas basados en la norma ISO 14644-1 tanto en reposo como en funcionamiento.

Consideran esta diferenciación muy importante porque los límites reglamentarios en reposo y en funcionamiento difieren Como mínimo un informe de clasificación debe ser llevado a cabo cada 12 meses, sin embargo, se recomienda realizar pruebas de integridad con una frecuencia de cada 6 meses para los grados A y B. Si los resultados del monitoreo continuo indican resultados fuera de las tendencias (OOT) en las áreas de Grado A y B, se debe realizar una investigación y se deben tomar las acciones apropiadas, y se debe considerar la recalificación.

El documento de la OMS describe aspectos muy importantes a tener en cuenta en toda área controlada, respecto del ejercicio de clasificación. así, para una habitación con x metros cuadrados de superficie (redondeada al número entero), $\sqrt{x}$ se deben muestrear puntos igualmente espaciados. Si dentro del área existe otra con flujo de aire unidireccional, esta área debe considerarse aparte.

Si la forma del cuarto no permite puntos de cuadrícula igualmente espaciados para ser seleccionados, se debe establecer un mecanismo para que al menos sea seleccionado el numero de puntos con respecto al tamaño del área.

Si el cuarto es pequeño y solo es necesario sondear una ubicación, al menos tres repeticiones deben hacerse y los valores pueden promediarse.

El volumen muestreado en cada lugar debería ser normalmente de al menos dos litros de aire, con un tiempo mínimo de muestreo en cada ubicación de un minuto. La recomendación ISO es:

$V_s = (1000) (20 / C_n, m)$, donde V_s es el volumen para muestrear y C_n, m es el límite reglamentario para que el tamaño de partícula más grande sea aceptable para fines de calificación

El número, la ubicación y el tamaño de los puntos de muestreo dinámico para la calificación. En reposo son los mismos que para la monitorización estática. Para todas las formas de monitoreo ambiental, se debe suponer que los contaminantes se introducen en la sala limpia desde puntos finitos, y su la distribución posterior puede ser limitada o esporádica. Por esta razón, el promedio de valores en los puntos de muestreo no es apropiado para el monitoreo en operación y para seguimiento en reposo.

Para el Monitoreo de rutina de partículas

En cada sala limpia, se deben realizar análisis de la distribución de la sala, materiales, equipos y personal presente, los tipos de actividades realizadas y el riesgo potencial para el producto. A partir de este análisis, se formulará un plan de muestreo de rutina basado en riesgos donde se detallen numero de puntos y ubicación de muestreo, volúmenes y frecuencias; en este plan, un esquema o dibujo de cada sala mostrará los lugares de muestreo. La justificación de la elección de los lugares de muestreo debe estar claramente documentados. Las evaluaciones de riesgo deben mantenerse al día es decir actualizadas conforme se vayan obteniendo datos por lo que se espera que sea un documento dinámico

Muestreo EM. Zonas donde se han detectado valores que superan el límite reglamentario requieren mayor frecuencia en relación con las que caen constantemente dentro de las especificaciones establecidas a lo largo del tiempo. Las frecuencias de control de las partículas por volumetría (en funcionamiento) se muestran en la siguiente tabla[5]:

Classification	In operation (dynamic) routine particulate sampling
Grade A (filling operation)	For the full duration of operation
Grade B	Daily ⁽¹⁾
Grade C	Weekly
Grade D	Not required
UDAF work stations in B	Daily ⁽¹⁾
UDAF work stations in C	Weekly
UDAF work stations in D	Monthly
UDAF in UNC areas	Routine re-qualification of UDAF is sufficient

⁽¹⁾ Working days. Monitoring can be omitted on e.g., weekends if no production activities are taking place.

Análisis de datos de monitoreo de rutina de partículas

Para muestras discretas o definidas, cada muestra debe analizarse por separado, y el promedio no debe realizarse para los resultados de varios sitios o de un solo sitio muestreados en múltiples momentos. Cualquier valor por encima del límite reglamentario debe ser visto como una excursión que requiere investigación.

Se deben tener en cuenta los eventos generadores de partículas de duración limitada, como procedimientos breves, las fallas en equipos o los derrames que podrán afectarán a algunos productos de un lote, pero no a todos. Las muestras tomadas próximas al espacio de trabajo son más representativas que los distales, y las muestras tomadas durante ciertas actividades pueden ser más relevantes que las realizadas cuando estas las actividades no están en marcha.

Los resultados deben analizarse teniendo en cuenta esos factores y de manera proactiva tomar muestras que reflejen el mayor riesgo potencial para las características deseables del tejido.

Finalmente se resalta que, los resultados de la supervisión de todos los controles son obligatoria para la liberación del producto terminado. Tales controles incluyen las superficies y el personal que deben ser monitoreados después y aun durante las operaciones críticas por lo que se requiere un monitoreo microbiológico adicional en operación para la actividad en procesamiento.

Así mismo, después de la validación de los sistemas, de la limpieza y desinfección. Y cuando no se apliquen controles «en funcionamiento», el seguimiento microbiológico debe justificar esta ausencia en todo caso cumpliendo con el objetivo de garantizar un grado aséptico adecuado para iniciar cualquier actividad.

De lo anterior se concluye que la liberación de áreas es un paso anterior a su uso en cualquier actividad principalmente aquellas consideradas críticas. En consecuencia, se debe establecer un programa de seguimiento para la verificación de los resultados de los controles de manera integral.

Existen límites máximos permitidos para cada grado en relación con la calificación de las áreas. El mismo documento indica que “deberían establecerse límites adecuados de alerta y acción para los resultados de la monitorización de partículas y microbiológicas. Si se superan estos límites, los procedimientos operativos deben prescribir la acción correctiva”

2. Procuración del tejido:

se establece la incidencia de la experiencia y el conocimiento específicamente necesarios para obtener cada tipo de tejido, garantizar la adherencia a procedimientos escritos para que sean preservadas las características de los tejidos y células para su uso final, y para minimizar el riesgo de contaminación microbiológica .Las citadas EURO Good Tissue Practices European Union Project in the framework of the Public Health Program indican que para ello “a) La recuperación debe realizarse en condiciones equivalentes a las vigentes para la cirugía; b) Los materiales y equipos deben ser desechables o esterilizados adecuadamente” y en este sentido si llegara a no ser posible cumplir con tales condiciones, deben garantizarse las mejores posibles en el área de recuperación implementando todos los controles para mantener los riesgos mitigados.

3. Procesamiento:

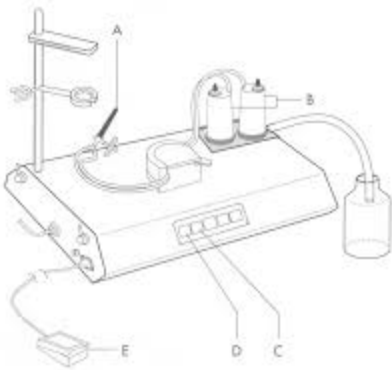
La descontaminación por antibióticos, esterilización o cualquier otro método fisicoquímico. deben ser específicamente adaptados al tipo de tejido o células y “debe ser validado en detalle”.

Se reitera la necesidad de establecer en tiempo real las condiciones microbiológicas de los ambientes controlados durante el procesamiento principalmente cuando estas implican movilización importante de personal, equipamiento y actividades “sucias” asociadas al manejo de material de partida no estéril.

4. Embalaje y etiquetado:

Se destaca que las instalaciones para el envasado de tejidos/células deben diseñarse y para evitar confusiones o contaminación cruzada y que se deben llevar a cabo pruebas de esterilidad.

Existen técnicas de siembra directa y por filtración ambas con limitaciones que deben ser evaluadas y validadas para decidir la mejor de acuerdo con el tipo de tejido y el procesamiento que le aplica. Para la filtración se cuenta comercialmente con sistemas abiertos y cerrados de tal manera que sea cual fuera la opción por la que el banco se decida, deberá estar fundamentada en hechos y datos.



emps.gob.es/laAEMPS/eventos/medicamentos-uso-humano/2010/docs/terapias-Avanzadas_marzo-2010/ponencias/Esterilidad_S.Lopez.pdf

5. Almacenamiento:

La calidad de los envases y las Temperaturas de almacenamiento deben ser objeto de validación.

Por ejemplo, las BP europeas determinan:
“los ojos / córneas del donante deben almacenarse a temperaturas especificadas a continuación:

- a. Las córneas de donantes obtenidas para el cultivo de órganos mediante escisión del complejo corneoescleral deben almacenarse en medio de cultivo de órganos a temperaturas de 10 a 40 ° C.
- b. Los ojos del donante y los discos corneoesclerales para almacenamiento hipotérmico / almacenamiento en cámara húmeda deben almacenarse fríos a temperaturas entre 1 ° y 10 ° C (p. ej., utilizando elementos refrigerantes). Deben evitarse estrictamente temperaturas inferiores a 0 ° C.
- c. Las córneas para criopreservación para almacenamiento a largo plazo (destinadas únicamente a los fines de queratoplastia tectónica (estructural)) deben almacenarse mediante congelación a temperaturas bajo cero entre -75°C y - 196°C. Debe reconocerse que se perderá la integridad funcional del endotelio corneal, y los bancos de ojos pueden optar por eliminar el endotelio antes del almacenamiento mediante este método.

El tiempo de vida útil de las corneas se relaciona con su naturaleza de tejido vivo viable por lo cual se busca mantener este estado hasta el trasplante. La citada Guia indica “El tiempo máximo de almacenamiento de tejidos oculares en medio de cultivo de órganos o solución hipotérmica depende del medio de almacenamiento utilizado. El tiempo de almacenamiento no debe exceder el tiempo máximo de almacenamiento prescrito por el fabricante del medio / solución, o el tiempo máximo de almacenamiento determinado por el proceso de validación del banco de tejidos.”

Es importante destacar el relieve de la actividad de validación para generar información valida y que al ser obtenida mediante un diseño experimental adecuado permitirá justificar las decisiones del banco que luego plasmara en sus procedimientos, cuya finalidad es unificar las actividades disminuyendo errores por ejecución de tareas fuera de lo previsto.

Las Validaciones son entendidas como la comprobación analítica sustentada en evidencia sólida estadísticamente soportada de que los procesos, incluyendo las actividades de procesamiento y control de calidad entre otras, se realizan de la mejor manera posible, con base en lineamientos normalizados y que esto permite dar confianza respecto de la calidad del producto, evidenciado mediante el control del mismo en todas sus etapas y hasta el producto final.

Específicamente la normativa colombiana prevé que los controles microbiológicos es la actividad de validaciones por cuanto los controles del proceso y al tejido en el ámbito microbiológico como es el alcance del presente documento DEBEN ser validados antes de incorporarse como procedimientos definitivos una vez se cuente con suficiente evidencia documentada de que es el procedimiento/método/técnica/proceso que satisface las necesidades regulatorias y normativas.

Nuevamente de cara a un enfoque de riesgos las BP europeas determinan la necesidad de contar con riesgos identificados, puntos críticos gestionados por ejemplo en lo que respecta a los procedimientos metrológicos del banco. Así lo determina explícitamente: “Debería utilizarse un enfoque de evaluación de riesgos para determinar el alcance y la extensión de la validación.” No obstante que las guías son una propuesta de las mejores prácticas y en tanto así no son de obligatorio cumplimiento salvo que en conjunto los bancos de tejidos quisieran apropiarlas, debe hacerse referencia a la normativa que hace exigibles a todos los actores de las cadenas productivas de tecnologías sanitarias de uso y consumo humano, una gestión de riesgos integral.

Es preciso reconocer y gestionar los riesgos legales/éticos. Por ello las BP europeas indican: “For medical research. The donor's consent is required for this specific purpose and the research protocol must be approved by an ethics committee[6] en este sentido debera evaluarse si tal principio etico puede ser garantizado para que se obtenga un numero de tijidos suficiente para el ejercicio de validacion cuyo tamaño de muestra debe justificarse estadísticamente para demostrar que los resultados obtendos sean extrapolables al número de productos en toda la produccion con un minimo de tres lotes y que tales lotes piloto contengan un numero justificado de tejidos según el tipo de estos.[7]

Detalles podrán encontrarse en la literatura científica especializada ya que no es el objeto del presente documento determinar aspectos específicos de cada tejido.

Aun el uso de modelos animales podrá ser permitido luego de la referenciación adecuada de literatura que cada banco de tejidos realice para dar soporte a su diseño experimental y con base en el objetivo de cada validación y conforme a la naturaleza propia de cada tejido.

Se espera rigor en la definición de los puntos críticos de control y abarcar todos los procesos junto con sus elementos constituyentes (materiales, métodos, recursos y los demás identificados) para así justificar lo definido dentro del Plan Maestro de Validación[8].

Prevención de la Contaminación cruzada.

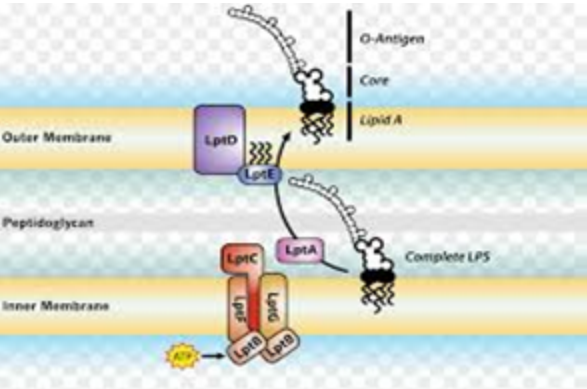
En las diferentes etapas desde la procuración y principalmente en el rescate, la contaminación es posible a través del contacto con las superficies primero en la recuperación y luego en las áreas de procesamiento, teniendo como fuente importante el personal, y los materiales.

Sin embargo, no debe dejarse de lado las precauciones para evitar contaminación desde el donante al personal del banco de tejidos, estableciendo todas las barreras posibles para evitar perjudicar a los colaboradores.

CAPITULO III: CONTROL A TEJIDOS / PRODUCTOS

Existen controles generales y en este aspecto es preciso que los bancos de tejido determinen cuáles son las características de calidad que sus productos ofrecen y que se encuentre documentado y sea visible para el usuario. Si el banco declara que el producto es estéril debe demostrarlo, mediante pruebas de esterilidad y si es otro el nivel de control de contaminación también deberá declararlo documentarlo y demostrar que ejecuta las mediciones apropiadas a tal nivel de control.

Pruebas como endotoxinas bacterianas pueden ser requeridas conforme a los estándares que el banco indique que adoptara para demostrar las características de calidad propias de su producto. Sin embargo, se reitera que productos implantables deben cumplir requisitos mínimos que no pueden ser omitidos y que las técnicas analíticas deben ser validadas si no obedecen estrictamente a las normalizadas.



La endotoxina de la membrana Celular Bacteriana de la membrana externa de las bacterias Gram-negativas Imágen de Png
<https://www.freepng.es/png-43sbrr/>

Es de resaltar que una prueba de esterilidad negativa no permite concluir ausencia de endotoxinas y que estas últimas son generadoras de reacciones severas cuando se hallan en cantidades por encima de lo permitido. Las endotoxinas se encuentran presentes en las membranas celulares de bacterias Gram negativas y otros microorganismos y se liberan con la destrucción de las mismas dejando al descubierto el Lípido A uno de los componentes más fuertemente pirogénicos.

Para ilustrar su importancia La FDA emitió reglamentación específica en el documento “Submission and Review of Sterility Information in Premarket Notification [510(k)] Submissions for Devices Labeled as Sterile” que desde 2016 indica claramente que los implantes requieren pruebas de pirogenicidad para reducir el riesgo de reacciones tanto de endotoxinas bacterianas como de otros pirógenos.

Es así como recientemente y por primera vez la FDA recomienda que los implantes sean etiquetados como apirógenos basándose en el hecho de que deben cumplir con los límites establecidos para los dispositivos médicos generales en contacto con el sistema cardiovascular.

Allí se indica: “Las pruebas de pirogenicidad se utilizan para ayudar a proteger a los pacientes del riesgo de reacción febril debido a endotoxinas bacterianas gramnegativas u otras fuentes de pirógenos”.

Por otra parte, las BP europeas para bancos de tejidos manifiestan la necesidad de realizar pruebas de **estabilidad**. *“Debido a la variabilidad de los tejidos y las células, los requisitos para el control de la estabilidad deben definirse caso por caso. Debe diseñarse un programa de pruebas documentado y en desarrollo para controlar las características de estabilidad de los tejidos y las células. Los resultados deben utilizarse para establecer o confirmar las condiciones de almacenamiento adecuadas y volver a probar las fechas o fechas de caducidad. Normalmente se deben colocar tres lotes de tejidos representativos para establecer o confirmar la fecha de caducidad.”*

Es importante reconocer de nuevo la importancia de que sean establecidas, documentadas y declaradas las características que se le atribuyen a los tejidos más allá de las dimensiones u otros atributos evidentes de manera que sea transparente para el usuario y la autoridad sanitaria pero principalmente para que sobre esos atributos se construyan los controles específicos que sean requeridos.

Sobre tejidos de corta duración o de vidas útiles cortas e estantería es decir antes del uso las BP europeas encuentran necesario adoptar las medidas prescritas en documentos de la International Conference on Harmonisation[9] Cuando no sea posible teniendo una vida útil de pocos días es necesario implementar un programa basado en la ciencia. Para los tejidos / células con vida útil de al menos seis meses, se deben seguir las recomendaciones de ICH, si la cantidad de material muestreado lo permite.

La fecha de vencimiento o de caducidad debe provenir de los datos formales de los estudios de estabilidad realizados en al menos tres lotes de tejidos representativos. *“Los tejidos y las células deben procesarse a un mínimo de escala piloto y utilizando un método de procesamiento que simule el proceso final.”*

Controles de calidad específicos por tejido están previstos en las BP europeas [10] para continuar con el ejemplo de los tejidos oculares se describen básicamente aquellas referidas en la normativa nacional, sin embargo, el énfasis anunciado de la presente guía refiere a controles microbiológicos que se describen a continuación identificando solo aspectos fundamentales que no deben ser tenidos en cuenta [11]:

-los efectos antimicrobianos de los antibióticos en el medio de cultivo / solución de conservación deben incorporarse al ejercicio de validación para elegir el método de análisis microbiológico. Muchos controles microbiológicos en producto tales como las pruebas de esterilidad prevén el uso de sustancias neutralizantes considerando que puede existir una actividad de los productos añadidos en la etapa de procesamiento, que enmascaren la presencia de contaminación arrojando datos falsos de ausencia o menores cantidades de microorganismos, por lo que es obligatorio adelantar tales pruebas para dar validez a los resultados de esterilidad.^[12]

Las pruebas de esterilidad según USP, citadas por AABT cuentan con una serie de controles previos y en proceso, relacionadas con el uso de estrategias como la neutralización de sustancias inhibitoras propias de los productos en evaluación. En este sentido una prueba de esterilidad solo se considera válida si los controles previos y las pruebas de esterilidad incluyendo neutralización de inhibidores, son realizadas a satisfacción.

La AAEB prevé en sus Guías diferentes controles como:

Controles microbiológicos para córneas en medios de preservación[13]

“Durante la conservación en el medio especial al menos una prueba de esterilidad debe ser realizada. Para ello, se aplicará un método microbiológico con la sensibilidad necesaria para detectar bacterias y hongos. La prueba debe ser realizado durante el período de almacenamiento, y / o en un punto cercano a la distribución de la córnea, por ejemplo, en el momento de la evaluación terminal. La muestra de medio no debe recolectarse para pruebas microbiológicas antes del tercer día de conservación, debido al hecho conocido de que las córneas donantes no son estériles y debe esperarse un crecimiento significativo de microorganismos.”

Sin embargo, las BP determinan también que: “Cualquier cultivo microbiológico positivo debe llevar a tener el organismo identificado al menos al nivel de género.”

Por lo tanto, es obligatorio adelantar una investigación rigurosa que permita identificar el posible origen de la contaminación para tomar las acciones correctivas que sean necesarias a fin de prevenir la recurrencia de la situación.

Se entiende que todo producto implantable en el cuerpo humano debe ser estéril. Sin embargo, si no se cumple esta condición debe estar plenamente documentado bajo un esquema de validación completo, como se pretende compensar este riesgo, siendo que, toda cirugía y la mayoría de los procedimientos invasivos, si no todos, incluyen una profilaxis antibiótica lo que no es ubica para que los productos implantables sean estériles.

Por otra parte, para tejidos no estériles, como los oculares, se han definido pruebas específicas que se encuentran detalladas en los documentos citados como referencia por las BP europeas o la FDA, en este caso las pruebas conocidas como de LIMITE MICROBIANO contenidas en las farmacopeas europea y estadounidense o en otro caso, una modificación a la prueba de esterilidad podría ser validada por los bancos ya que las BP europeas prevén una modificación al modo de incubación indicando que “Todos los medios usados <deben almacenarse a 31 ° C durante cuatro (4) semanas y se inspeccionarán periódicamente para verificar turbidez. También refiere que, en caso de sospecha de contaminación, deben iniciarse inmediatamente pruebas microbiológicas adecuadas, que según el texto anterior determinarían la identificación de el o los microorganismos contaminantes.

Alternativamente, puede ser solicitado al médico o a la IPS trasplantadora, la devolución del medio una vez el tejido ha sido utilizado siempre que se cumplan condiciones de asepsia. Así mismo podrá realizarse una prueba microbiológica del tejido de la donante realizada al borde sobrante.

Controles microbiológicos para córneas en almacenamiento hipotérmico

En almacenamiento un diagnóstico microbiológico del cultivo medio no es factible mientras se encuentre en el banco por varias razones. Sin embargo, para tales

córneas se debe aplicar un método microbiológico sensible para detección de bacterias y hongos en del medio de preservación y/o en el tejido restante.

Igualmente, para la esclera se solicita que sea utilizado un método sensible para detectar mohos-levaduras/bacterias antes y después del almacenamiento.

En todos los casos los criterios de liberación serán definidos como corresponda según las competencias normativamente establecidas y el profesional responsable de la liberación deberá verificar que se cumplan antes de la distribución realizada por el director médico. La normativa nacional advierte sobre la necesidad de que las diferentes etapas de aprobación antes de liberación sean realizadas sin que sea objetable por superposición de funciones lo que asegura el control de riesgos de conflicto de interés cuando esto no se cumple.

Así, uno ejecuta y reporta los controles de calidad, otro evalúa el conjunto de los controles realizados para determinar que se encuentra lista para ser utilizada (liberación) y otro profesional podrá con criterios clínicos destinarla para el receptor.

Algunas previsiones de temperaturas y tiempos de conservación se determinan también en las BP europeas para bancos de tejidos.[14] Parámetros contra los cuales se podrá validar el transporte en las condiciones ambientales de cada banco según la zona climática y otras particularidades para definir el tipo de recipiente provisiona de elementos generadores de frio, en tipo y cantidad, entre otros aspectos, Control microbiológico de la placenta.

Durante la conservación del tejido placentario, al menos una prueba de esterilidad debe ser realizada. También se recomienda recolectar muestras de diferentes soluciones de enjuague y trozos de tejido para pruebas microbiológicas para la detección de bacterias y hongos.

A su vez la AABT presenta en sus Guías controles para los diferentes tejidos resaltando los relacionados con calidad microbiológica por constituirse en el riesgo fundamental a ser evitado pues se asocia a los principales eventos adversos relacionados netamente con los tejidos.

a. Piel:

La calidad microbiológica de los tejidos para aerobios, anaerobios y hongos requiere realizar lecturas a los 7, 14 y, 21 días en medios específicos es preferible el cultivo de líquidos que se encuentren en contacto con el tejido durante el proceso de recuperación y preservación y actualmente se utilizan técnicas de biología molecular para la identificación de agentes patógenos siendo del interés del banco establecer el tipo de contaminación presente para controlar más efectivamente los riesgos en cada etapa según se evidencie.

Con la evaluación bacteriológica y micológica de los aloinjertos de piel, todos los esfuerzos deben hacerse para asegurar la ausencia de patógenos relevantes que “definitivamente no pueden encontrarse” se definen uno a uno en las BP europeas[15] y para determinar umbral aseptico (carga biológica). En ningún momento podrá permitirse la aparición de patógenos en aloinjertos de piel, independientemente de su cantidad.

Las BP europeas para bancos de tejidos no permiten la toma de muestra de piel con hisopo ya que es claro que eso limita la cantidad de muestra analizada. La toma de muestras representativas (± de un mínimo 2 cm ²) es por tanto indispensable. Se definen 14 días para incubación en medios de enriquecimiento para bacterias aeróbicas y anaeróbicas, levaduras y hongos y cualquier crecimiento en el medio se monitorea a diario. De nuevo una técnica validada o normalizada debe ser utilizada, por ejemplo, como lo sugiere AABT, la de la Farmacopea de los Estados Unidos.

Si se observa crecimiento dentro de los 7 días, se rechaza el tejido. Si se observa el crecimiento después del día 7, los microorganismos deben identificarse conforme la técnica normalizada lo defina.

En caso de que se utilicen antibióticos u otros productos con acción antimicrobiana en el proceso de transporte y / o acondicionamiento, estos deben eliminarse con lavados intensos y su inactivación antes de las pruebas de esterilidad conforme se valide la técnica para el procesamiento específico.

Importante!! Estos protocolos de inactivación deben estar validados si no se apegan a técnicas normalizadas.

Habiendo realizado correctamente la validación demostrando que el periodo de vida útil antes del uso y la temperatura indicada permiten mantener las propiedades deseadas en el tejido, no se requerirán controles adicionales salvo si pretende modificarse el tiempo, el medio de preservación, la temperatura o el material del envase y/o empaque.

Controles de calidad al glicerol deben establecerse para que sea constante el uso de concentraciones de glicerol de entre 85 y 98% y para demostrar que es de calidad farmacéutica y de origen vegetal.

El control de la temperatura de preservación debe ser monitoreado e investigada /y documentada cualquier posible excursión verificando la afectación posible al tejido.

b. Válvulas cardiacas:

Controles de calidad deben ser establecidos según lo determinado en la validación de uso de la solución de transporte de cristaloides sus elementos nutricionales u osmóticos adicionales y los empaques utilizados.

La temperatura entre 2 ° / 10 ° C o aquella validada para la preservación de los homoinjertos debe ser asegurada hasta la fase de preparación, que debe realizarse dentro de las 12 horas (máximo 24 horas) después de la obtención del tejido.

En todo caso tiempos, temperaturas y materiales de empaque/envase deben ser validados para definir también la periodicidad de los controles de calidad

La temperatura es un factor crítico que debe ser registrado por lo que la validación de la cadena de frio debe obedecer a un diseño metodológico riguroso que permita obtener conclusiones formales.

Controles microbiológicos

De los aloinjertos se toman muestras microbiológicas y se cultivan para detectar gérmenes aeróbicos y anaeróbicos mohos y levaduras antes de la incubación con antibióticos.

Las muestras en las que se deben realizar análisis son:

- a) El medio de transporte al inicio del procesamiento
- b) Tejido miocárdico subvalvular (aórtico y pulmonar)
- c) Muestra después de la descontaminación y enjuague, antes del envasado final

Para las BP europeas los microorganismos que nunca se deben encontrar en una muestra de tejido cardiovascular (antes o después de antibióticos muestra se han definido completamente[16].

Los controles de calidad en cuanto a tipo y periodicidad se determinarán como resultados de las validaciones. Normativamente en Colombia es obligatorio que se validen tiempos, concentraciones y antibióticos elegidos, solos y en conjunto frente a efectividad e inocuidad sobre los tejidos y el receptor[17].

Las comprobaciones empíricas revelan en la literatura que los antibióticos son eficaces a 36°C pero no entre 2°C y 8°C, lo cual es una variable a tener en cuenta a la hora del procesamiento, Además, la mayoría de los antibióticos no pueden efectuar su mecanismo de acción a 4°C. Si el tejido está sumergido a una temperatura de 4°C, los antibióticos sólo serán absorbidos por el tejido, dando un resultado falso negativo en el cultivo del tejido de incubación post-antibiótico.

Así mismo se conoce que cuando se utilizan concentraciones extremadamente altas de antibióticos para la descontaminación, más que las utilizados en situaciones clínicas después de ello los tejidos se deben enjuagar, o incluso mejor, los antibióticos residuales en los tejidos deben ser neutralizados. Si no es así,

la presencia de antibióticos puede inducir bacteriostasis de microorganismos, lo que resultados falsos negativos en todas las muestras analizadas e incluso peor, existe el riesgo de que los antibióticos puedan causar reacciones tóxicas en los receptores de tejido.

A la fecha no se ha logrado confirmar con suficiente evidencia este asunto y cuán graves pueden ser las consecuencias clínicas. Sin embargo, existe el riesgo de que los receptores que tienen alergia antibióticos específicos podrían desarrollar reacciones después del trasplante como resultado de concentraciones extremadamente altas de antibióticos por lo cual todas las precauciones deben ser tomadas incluyendo la validación del efecto residual de la descontaminación y la eficacia del aclaramiento o la neutralización.

Lo anterior debido a que los receptores son tratados con antibióticos profilácticamente, por lo que sería difícil de probar, una reacción causada residuos de antibiótico en el aloinjerto tisular o de dimetilsulfaxóxido, que se ha reportado, puede causar disfunción renal y hepática y complicaciones cardiovasculares localmente.

Otros autores han descrito rechazo agudo de un homoinjerto arterial crioconservado de origen desconocido que podría ser causado por el contenido residual de antibióticos, dimetilsulfaxido o proteínas tisulares dañadas[18].

El efecto de dosis en muchos antibióticos (como beta-lactámicos) no es directamente proporcional y en cambio cuanto mayor sea la dosis, más tóxicos puedan ser sus efectos en el receptor; y aun sobre la supervivencia del injerto.

Por otra parte, se estudia ampliamente que los cócteles antibióticos perturban las propiedades intrínsecas de los tejidos, debido a su influencia sobre las actividades enzimáticas y eventos inmunológicos. Por ejemplo, la presencia de antibióticos en los lípidos de la piel, la córnea y las membranas ha sido reportada[19].

La composición y concentración de antibióticos contribuyen al nivel de efecto tóxico sobre las células tisulares. Así que una pregunta que sigue sin respuesta es la influencia de diferentes concentraciones de antibióticos en y las propiedades biomecánicas de la matriz tisular y de otras estructuras de las válvulas. [20],[21] En este sentido, parece razonable establecer un ejercicio de investigación o una validación para revelar la incidencia de estos en la práctica habitual de los bancos.

Estudios europeos mostraron que cuando se encontraron e identificaron microorganismos casi todos los bancos de tejidos rechazan los tejidos, incluso cuando no fueron aislados del tejido después de la descontaminación, lo cual se considera una buena práctica, Así cuando una muestra sale positiva para los microorganismos en el primer control, que es principalmente el fluido de transporte, sería rechazado de todos modos.

La razón por la que los bancos de tejidos, utilizando un método validado, rechazan tejido que es negativo para los microorganismos en el control final, es probablemente el riesgo de error de muestreo, que sumado a las limitaciones propias de las pruebas microbiológicas, requiere que cada banco demuestre mediante validación lo adecuado de sus procedimientos.

Así mismo se encontró que el atributo de “esteril” solo se debe adjudicar si se aplican métodos efectivos, como la radiación o la esterilización por calor. Sin embargo, tales métodos deletéreos para las válvulas y otros tipos de injertos de origen cardiovascular al optar por la descontaminación la validado para asegurar que el tejido contiene una cantidad mínima/indetectable de contaminación por lo que los métodos elegidos tales como las pruebas de esterilidad no deben generar incertidumbres adicionales utilizando técnicas armonizadas y ganar confianza en la esterilidad empleando procedimientos normalizados.

Los estudios en bancos europeos también han identificado la necesidad de validar procedimientos y métodos tomando siempre cultivos de homoinjertos en el momento de la implantación o durante un período de tiempo específico.

En un estudio de Gall et al., válvulas postmortem recuperadas en morgues están asociadas con un riesgo del 54% de contaminación, mientras que los recuperados en un quirófano tenía una tasa de sólo 12%. Sin embargo, Paolin et al. encontraron una tasa de contaminación del 84% incluso en el quirófano. Estos los autores atribuyen el aumento de la tasa de contaminación en la atmosfera. Otros estudios han indicado que, en general, una reducción del tiempo entre la asistolia y la recuperación del tejido es un factor importante[22].

Sin embargo, también se estableció que tejidos recuperados de la cavidad torácica y abdominal de donantes que presentan derrame hemorrágico puede facilitar pasiva y activamente la contaminación cruzada. La presencia de microorganismos del tracto gastrointestinal en las válvulas recuperadas es probablemente el resultado de la migración microbiana a través del torrente sanguíneo y el diafragma en el intervalo postmortem. La relación entre el tiempo de recuperación y el riesgo de contaminación se ha notificado en varios estudios. La más baja tasa de contaminación se encontró cuando el tiempo isquémia caliente se mantuvo por debajo de 24 h.33 Van Kats et al.encontro una relación significativa entre ese tiempo y la contaminación en la recuperación.

Paolin et al. demostraron que la contaminación de los tejidos se correlacionó estadísticamente con género, tipo de donante, tiempo de cadáver, número de personas asistir a la recuperación, y el clima. Estos autores propusieron que, para minimizar el riesgo de contaminación bacteriana, es preciso maximizar el rigor en las técnicas asépticas, implementando las restricciones al número de miembros del equipo permitidos entre otras cosas.

Así mismo indican que es importante realizar un Cultivo microbiológico antes de tratar el tejido con antibióticos para identificar los microorganismos "pre-desinfección". Los criterios de aceptabilidad establecidos incluyen cantidad de microorganismos, el tipo de microorganismos, su estado fisiológico, la etapa de crecimiento, la formación de las endosporas, ya que la desinfección es un proceso que reduce el número de microorganismos viables en el tejido, pero no puede destruir todas las formas microbianas, como esporas y virus. Para esto tanto en los procesos de desinfección como en los de limpieza de áreas y lavado de material deben incluir agentes que destruyan virus esporas y otras formas complejas de los microorganismos.

Respecto de los métodos de cultivo microbiológico, las publicaciones consultadas coinciden en la importancia de que se puedan recuperar todos los microorganismos aeróbicos y anaeróbicos, así como hongos en todas las etapas del procesamiento de la válvula y podrán ser tanto cualitativas como y cuantitativas. También se resalta que la identificación tanto del género como de la especie debe ser efectuada en cultivos positivos.

Se identificó en la ronda de pruebas realizadas incluyendo un número importante de bancos de tejidos de Europa que, una variable que no era evaluada o no considerada consistentemente en la mayoría de los estudios fue la especificidad y sensibilidad de la técnica de cultivo microbiano, así como el método de muestreo. Además, se evidenciaron desestimados o poco valorados los estudios para determinar sus fuentes de contaminación, la eficacia de sus procedimientos, los requisitos de su sistema de garantía de calidad, y la sensibilidad de sus métodos de cultivo.

Muchos bancos conforme al estudio realizado están cultivando muestras de tejido en caldos de cultivo y subcultivando en placas de agar como métodos para determinar la seguridad microbiológica de válvulas cardíacas diseccionadas. Sin embargo, sólo el 17% de los fragmentos de tejido miocárdico mostraron la presencia de microorganismos, mientras que el 64% de los medios de transporte con muestras de los corazones dieron positivo.[23]

La contaminación de los tejidos recuperados es un problema importante para la seguridad del aloinjerto. Por consiguiente, los bancos de tejidos han implementado protocolos de descontaminación para eliminar microorganismos de los tejidos. A pesar de la adopción generalizada de estos protocolos, pocos estudios completos que validan tales métodos ha sido publicados identificándose al menos dos formulaciones diferentes capaces de matar la mayoría de las bacterias durante la incubación prolongada en 4°C.

Como se ha dicho un esquema de descontaminación no puede considerarse efectivo si no se compara con el bioburden inicial mediante Pruebas cuantitativas mediante una técnica que utiliza filtros de membrana (MF) con un tamaño nominal de poro 0,45 mm y una eficacia establecida para retener microorganismos. Se trata de una de las pruebas farmacopeicas de esterilidad por filtración a través de membranas.

El cálculo del bioburden y su cualificación en estos tejidos y en otros como el óseo es importante también para comprender los posibles mecanismos de contaminación y determinar la carga bacteriana de los estudios de descontaminación in vitro, así como las estrategias de desinfección durante el procesamiento de válvulas y de otros tejidos. La identificación microbiana debe realizarse en todos los cultivos positivos para determinar el género y especies presentes durante la recuperación, procesamiento.

Existe un importante número de estudios que determinaron las mejores condiciones para realizar bioburden, en uno de ellos validando al menos 20 corazones y diferentes métodos de cultivo en volúmenes variables por inoculación directa comparándola con filtración por membrana y encontrando que la tasa de detección

fue superior principalmente cuando se espera un bioburden bajo y por tanto es la técnica de elección debido a tasas de detección más altas. Los gérmenes más comúnmente aislados (lo que puede diferir según las variables ya mencionadas) son gérmenes del microbiota de la piel (Staphylococcus spp., Cutibacterium spp., Corynebacterium spp., Bacillus spp.); y bacterias del microbiota endógeno eran menos frecuentes, como Streptococcus spp y Enterobacteriales.

Según la recomendación de la AATB, se consideran patógenos y altamente microorganismos que resultan en descarte de tejido si se detecta en cualquier etapa del procesamiento: Clostridium spp. (en particular C.perfringens o C. tetani); Enterococcus spp.; Flavobacterium meningiosepticum; Klebsiella rhinoscleromatis; Listeria monocytogenes; MRSA (resistente a la meticilina S. aureus); Mucor spp.;Mycobacterium spp.; Neisseria gonorrhoeae; Nocardia spp.;Penicillium spp.; P. aeruginosa o Pseudomonas. pseudomallei;Salmonella spp.; Shigella spp.; Streptococcus pyogenes (Grupo A); Aspergillus spp.; Candida spp.; y otras levaduras u hongos/mohos.

Así los controles de medio ambiente y las pruebas finales de esterilidad integradas al sistema de monitoreo de gestión de la calidad como un programa consolidado permite que todos los datos se conviertan en acciones de mejora y no en simples documentos para el archivo. Por otra parte, pero en línea con lo anterior y referido al efecto del tiempo y la temperatura del tejido desde su obtención o recuperación hasta el almacenamiento en stock, las BP europeas establecen:

“Para asegurar la calidad del tejido, es fundamental que el procesamiento y la conservación se tomen el menor tiempo posible, con un tiempo total de isquemia de 72 horas. Las demoras máximas definidas son 24 hrs para el inicio de la recuperación, 40 hrs para el inicio de procesamiento y 48 hrs para el inicio de la criopreservación (a partir del momento de paro circulatorio en caso de donantes fallecidos). El procesamiento debe realizarse dentro de las 24 horas posteriores al paro cardíaco / recuperación y finalizar con criopreservación a un máximo de 72 horas de parada cardíaca.”

Visto lo anterior se hace relevante monitorear los tiempos en el procesamiento y asociar este análisis a los reportes de calidad.

Según las guías de la asociación americana si la incubación de antibióticos no puede ser seguida directamente por la criopreservación, los aloinjertos se almacenarán en una temperatura de 4 ° C en una solución adecuada hasta la criopreservación y destaca: *“(el máximo es 40 horas después de la parada de la circulación). Periodos de almacenamiento más largos deben someterse a una investigación exhaustiva para determinar si la calidad del tejido es alta suficiente para ser utilizado de forma segura.”*

Considerando que la normativa nacional exige validar los medios de preservación, cualquiera sea el elegido debe someterse a una confirmación empírica que corresponde a la validación, mediando un adecuado diseño del estudio.

Para la criopreservación como se indica localmente, el procedimiento debe ser validado para determinar que la velocidad de congelación, la temperatura intermedia y demás variables deben ser controladas, medidas y registradas a fin de obtener conclusiones válidas, obteniendo en lo posible registros directos (impresiones) si es que la tecnología utilizada lo permite.

Según las BP para bancos de tejidos en Europa *“El almacenamiento a -80 ° C es aceptable por un período corto (máximo 1 mes). (...) períodos de almacenamiento más largos a -80 ° C no son aceptables.*

Aun así, aceptan que el tema es discutible puesto que en la literatura se menciona que puede almacenarse en esas condiciones hasta 6 meses como máximo. Sin embargo, la mayoría de bancos aceptan hasta 3 meses. Así las cosas, lo obvio es validar el tiempo máximo sea cual fuere el que demuestre mejores condiciones, mediando para ello datos que lo confirmen.

Para la temperatura de envío las citadas guías: *“El envío y almacenamiento temporal del aloinjerto vascular en el hielo seco a una temperatura de -70 ° C a -80 ° C es aceptable con la condición de que el aloinjerto permanezca en estas temperaturas (y estas estén controladas) hasta su uso. No se puede volver a almacenar a la temperatura de almacenamiento inicial (-170 ° C o inferior) y su duración de almacenamiento está limitada a un máximo de 1 mes desde el momento de la extracción si mantiene las condiciones iniciales de almacenamiento”*

De lo anterior se concluye que las devoluciones no son una opción para este tipo de tejidos y que el registro de la temperatura siempre dentro de especificaciones y referida al tejido (considerando que la de este no necesariamente es la del recipiente) es una condición obligante para demostrar calidad del tejido hasta el receptor.

Otra conclusión posible es que es mandatorio definir las fechas de expiración de cada uno de los tejidos, registrarlas y hacerlas valer, según sus condiciones específicas de manejo en el banco.

Tambien se incluyen datos que permiten mantener la calidad de los injertos respecto de la criopreservación y almacenamiento en nitrógeno líquido señalando que los tejidos se criopreservan “utilizando un congelador de velocidad controlada y programado especialmente según un protocolo (donde se evidencie el uso de varios parámetros de congelación) hasta que los tejidos alcancen una temperatura de -100 ° C. Durante el protocolo de criopreservación”.

Señalan también que se debe registrar la velocidad de congelación, en lo posible recopilando datos emitidos en tiempo real, y plasmar en los registros cualquier consistencia que pudiera haber ocurrido durante el proceso. Así mismo se establece que los tejidos se transfieren a un tanque de nitrógeno líquido con control de temperatura.

Explícitamente se han dado las siguientes indicaciones:

“La congelación debe ocurrir en un congelador de velocidad controlada, disminuyendo la temperatura muy lentamente (-1 ° C) hasta -40 ° C (para evitar la recristalización al nivel de -23 ° C) y luego rápidamente (-5 ° C) hasta -1000 ° C. El almacenamiento en fase vapor de nitrógeno líquido (entre -170 ° C y -190 ° C) (-150 ° C y -187 ° C) es aceptable por un período de 5 años. Después de períodos de almacenamiento más prolongados, los tejidos caducan y deben desecharse.” [24]

En cualquier caso, todo esquema de preservación debe validarse, aunque se tome una referencia científicamente aceptable para establecer las variaciones propias del efecto local en un proceso denominado validación secundaria.

c. Tejido osteomuscular:

Controles de calidad al donante según las BP europeas:

Los bancos de tejidos solo pueden aceptar tejido de donantes con una dilución de plasma de más de cincuenta (50) por ciento, si los métodos de prueba aplicados a dicho plasma están validados.

Temperaturas de almacenamiento

Los tejidos musculoesqueléticos adquiridos deben almacenarse a temperaturas adecuadas para mantener sus características y funciones biológicas adecuadas para el uso previsto.

Las temperaturas corresponden principalmente a las temperaturas de almacenamiento especificadas a continuación en dependencia del método.

- Los tejidos del donante musculoesquelético deben almacenarse en condiciones hipotérmicas de acuerdo con el protocolo validado deben ser de 2-8oC o en temperaturas de -30 a -70 ° C (en hielo seco, en congeladores o ultracongeladores). También se acepta almacenar tejidos musculoesqueléticos en recipientes de nitrógeno líquido a temperaturas entre -75°C y - 196°C.

Tiempo de almacenamiento[25]

El tiempo de almacenamiento hipotérmico se debe evaluar y validar sin que pueda superar los 3 meses después del rescate.

Controles en Procesamiento de tejidos

Entre cada etapa, el tejido óseo debe almacenarse por poco tiempo a -40 ° C, mejor a -80 ° C o mantenerse en hielo.

Respecto de la *Esterilización o descontaminación[26] de células y tejidos* musculoesqueléticos las BP europeas indican que aunque para la esterilización y descontaminación se puede utilizar una amplia gama de procedimientos es deseable la esterilización.

Esterilización

El procedimiento debe asegurar que ninguno de los organismos viables estará presente en la muestra después esterilización.

Se debe considerar el término nivel de garantía de esterilidad entendido como la probabilidad esperada de un microorganismo superviviente en una unidad de producto individual después de la exposición a un proceso de esterilización. Así, SAL10-6 se estableció para productos con contacto directo con humanos indicando, que hay probabilidad de supervivencia de 1 microorganismo en 1 millón presente en el producto.

Esterilización por radiación

Tanto los rayos gamma como el haz de electrones acelerado podrían usarse para el proceso de esterilización. La técnica (dosis de irradiación, temperatura de irradiación) debe ser validada, considerando la contaminación inicial (biocarga/bioburden) y otros factores que influyen en la eficacia n (por ejemplo, presencia de oxígeno, estado físico del injerto).

Por tanto, no se puede recomendar una dosis específica. Las dosis utilizadas para la esterilización pueden variar entre de 17 a 35 kG y se establecen después del cálculo de la contaminación inicial, mismo que debe calcularse conforme a métodos estandarizados o normalizados y deberá documentarse para las condiciones del producto específicamente.

Debe ser demostrado incuestionablemente que se alcanzó la esterilización para cada lote de tejido

Normativamente en Colombia si bien es una actividad que puede contratarse, la responsabilidad por las actividades de validación sigue en cabeza del cuadro principal de personal según las BP nacionales. Por esa razón aun cuando se contrate será exigible al banco de tejidos la presentación de la validación del proceso de esterilización para sus productos, determinando así las variables para su ejecución exitosa. Cualquier cambio frente a lo validado debe someterse a una nueva validación de otro modo no será aceptable de cara al cumplimiento de la regulación local.

Esterilización con óxido de etileno; el injerto debe exponerse a la cantidad de óxido de etileno que se determine en la validación, donde debe garantizarse que el procedimiento cumpla con los requisitos de temperatura, humedad y concentración de gas.

Después de un tratamiento con óxido de etileno, es necesario seguir un proceso de ventilación que permita la eliminación de residuos óxido de etileno y sus subproductos (por ejemplo, etilen clorohidrinas y etilenglicol). Por eso en cada lote de óxido de etileno, se deben utilizar indicadores químicos.

Debe ser demostrado que se alcanzó la esterilización para cada lote de tejido. Muestras representativas de cada lote debe ser probado para detectar la presencia de óxido de etileno residual o productos de descomposición debido a la toxicidad de los residuos químicos. El tejido tratado con óxido de etileno debe luego ser congelado a -40 ° C, o liofilizar y almacenar a temperatura ambiente.

Descontaminación[27]

Descontaminación química.

Existen muchos productos químicos que tienen una función de descontaminación o un efecto inactivante sobre patógenos específicos (por ejemplo, ácido peracético, yodóforos, etanol). Debe validarse la eficacia de estos agentes en cada tipo de tejido y es importante mencionar los productos químicos utilizados en la documentación que acompaña al injerto.

También es necesario mencionar la naturaleza de estos productos químicos y la posible presencia de trazas de estos productos o productos de descomposición.

Descontaminación por antibióticos;

Según las BP europeas para bancos de tejidos la eficacia de cada cóctel de antibióticos debe validarse y documentarse. Así mismo es exigible según la legislación colombiana.

De acuerdo con publicaciones de estudios recientes, el tratamiento a una temperatura más alta (como la temperatura ambiente, 22 C) durante períodos más cortos aumentaría la eficacia de la descontaminación (en particular, permitiría un mayor agotamiento de especies más resistentes, incluido Enterococcus faecalis) y reduciría los tiempos de procesamiento; sin embargo, este procedimiento podría no ser aplicable a todos los tejidos debido a su menor supervivencia a esta temperatura.

Los investigadores, vinculados a bancos de tejidos encontraron interesante medir la vitalidad de los tejidos a esta temperatura mediante la realización de pruebas específicas y evaluar la eficacia de los procedimientos de descontaminación cortos con tiempos de incubación más cortos.

Es importante señalar que la susceptibilidad a los antibióticos varía dentro de las especies, por lo que debe utilizarse un panel de aislamientos de los contaminantes bacterianos encontrados en el campo para establecer el comportamiento de los microorganismos, su presencia en los sitios de recuperación de los tejidos y principalmente su susceptibilidad a los antibióticos usados en el banco.

Para verificar la efectividad de la descontaminación se emplean pruebas microbiológicas que no pueden ser evaluados adecuadamente sin contar primero con indicadores de referencia como el bioburden inicial o la tasa de contaminación después de la recuperación. La mayoría de los estudios utilizaron tipos de medios presuntamente capaces de capturar la mayoría de los organismos que podrían contaminar los tejidos, pero se encontró que el uso de sólo un medio de cultivo o un parámetro de incubación puede excluir patógenos importantes que podrían afectar la seguridad.

Por eso, en Europa se ha establecido que las Farmacopeas Europea y Norteamericana que armonizaron la mayor parte de sus contenidos, han definido en su capítulo de esterilidad y de limite microbiano técnicas y métodos probados, validados y ampliamente recomendables con un tiempo óptimo de incubación es de 14 días. Según esto, el método de inoculación directa es adecuado tanto para soluciones y muestras de tejidos.

La eficacia de las soluciones antibióticas utilizadas debe ser validada contra la gama de especies bacterianas normalmente recuperados de tales tejidos; además, el banco de tejidos debe elaborar una lista de criterios de exclusión de especies basados en una evaluación del riesgo clínico de infección grave en el Destinatario. Las bacterias contaminantes más comúnmente encontradas incluyeron Staphylococci, Cutibacterium (anteriormente Propionibacterium), Streptococci, y E. coli.

Los sistemas automatizados de cultivo se pueden utilizar siempre que se validen contra el método de referencia y es importante asegurarse de que el método automatizado/rápido proporciona el nivel adecuado de sensibilidad y especificidad, para que los resultados produzcan la información necesaria.

Otras pruebas de Control de calidad [28]

Las pruebas de control de calidad en injertos musculoesqueléticos deben considerar al menos los siguientes criterios mínimos de calidad:

- a) Morfología e integridad de los injertos musculoesqueléticos
- b) Forma y tamaño
- c) Residuos de humedad en injertos liofilizados
- d) Contenido de calcio en hueso desmineralizado
- e) Indicadores de esterilización
- f) Número de células viables
- g) Sin evidencia de crecimiento microbiológico o células malignas

Se espera que todas las evidencias de estos controles reposen en el dossier de cada lote por lo menos.

Control microbiológico[29]

Durante la recuperación, se deben recolectar muestras microbiológicas para establecer contaminación de tejidos para tomar una decisión durante la cuarentena con respecto a la liberación de los materiales para su posterior procesamiento.

Puede haber dos técnicas de muestreo para microbiología.

- Hisopos - colección de microorganismos potenciales de la superficie de los tejidos
- Método destructivo: una biopsia tomada de los tejidos obtenidos.

Durante el procesamiento, las muestras microbiológicas deben recolectarse antes del envasado del producto. Puede haber tres técnicas de muestreo para pruebas microbiológicas:

- Hisopos
- Método destructivo
- Recogida de la última porción del líquido utilizado para el lavado del injerto de tejido.

Es de anotar que la bibliografía actualizada revisada a fines de esta guía revela que la técnica de toma de muestra con hisopos ha sido cuestionada por las limitaciones respecto de las cantidades de muestra que puede tomar y de acuerdo con su composición podrá retener o perjudicar (en términos de toxicidad) las células bacterianas presentes.

Controles de calidad en Almacenamiento / conservación[30]

Debe reconocerse que, si bien se recomiendan tiempos máximos de almacenamiento para los diversos métodos de conservación de tejidos, en la mayoría de los casos es preferible trasplantar tejidos antes de que se acerquen a estos tiempos máximos para optimizar el resultado quirúrgico.

La disponibilidad de tejido, los requisitos clínicos y la necesidad quirúrgica pueden determinar el tiempo de almacenamiento para cada tejido individual.

La contaminación del material del injerto óseo no es rara y la incidencia de rechazo reportada en la literatura médica oscila entre el 17% y el 50%.9 –13 Esta variación en la tasa de rechazo del tejido óseo está relacionada con la incidencia de enfermedades infecciosas-contagiosas y en la aplicación rigurosa protocolos establecidos para la recolección y manipulación de los tejidos.12–15

Se espera que los bancos establezcan indicadores para este parámetro.

Según los registros de la literatura, la incidencia de contaminación en el material del injerto óseo procedente de cadáveres es mayor que la tasa entre donantes Vivos. La tasa de rechazo de las musculoesqueléticas recolectados a partir de cadáveres está relacionada con el período de tiempo entre la muerte y la extracción de tejido.

Según la AATB, y en conformidad con la orientación y las normas establecidas, la posibilidad de Transmisión del VIH en trasplantes óseos en los Estados Unidos ha sido uno de cada 25 millones. En Colombia, no hay estadísticas similares o los datos aún están disponibles. Estudios recientes han observado que los injertos óseos congelados que se habían almacenado adecuadamente, y para el que se habían seguido los criterios de protección contra las contaminaciones, no presentan alteraciones en su estructura y mantienen sus atributos de tamaño y forma.

No obstante, estudios realizados han determinado que un período de cinco años, a partir de la fecha de recolección, es el límite para el uso de injertos almacenados, de acuerdo con las normas recomendadas por ANVISA y AATB.

Para los injertos óseos congelados obtenidos en condiciones asépticas que funcionan como base para la neoformación ósea y actúan más en un sentido osteconductor que osteoinductivo, en general no se recomienda la esterilización por medio de la radiación.[31]

Otra fuente de contaminación ocurre en el laboratorio de microbiología. Se pueden contaminar diferentes medios, materiales y otros contenidos durante el proceso de cultivo de tejido o solución. El nivel de bioseguridad (BSL) utilizado para el cultivo de rutina es el BSL-2, donde las personas no están vestidas para el trabajo estéril, lo que potencialmente porta y propaga microorganismos a diferencia de otros niveles de contención.

Los documentos de orientación de la Asociación de Bancos de Tejidos (AATB) entre ellos "Validación de Procesos Microbiológicos " requiere dicha validación de los procedimientos relacionados con procesamiento de tejidos.

Este documento cita que el resultado de un proceso de desinfección o esterilización está relacionado con la capacidad de ese proceso para reducir o eliminar los microorganismos en el tejido y referido al procesamiento particular. Se sabe por ejemplo si en la pre-esterilización la carga microbiológica previa a la desinfección supera el nivel para el cual el proceso ha sido validado habría una falta de seguridad inaceptable.

Por eso, para la AATB los cultivos microbiológicos previos a la desinfección desempeñan un papel crítico en función de indicar si la capacidad del proceso se excederá. Es igualmente importante tener en cuenta que los métodos de cultivo en proceso y final no se inhiban o sean influenciados por agentes de procesamiento residual, materiales de ensayo, u otros factores. También deben reconocerse los cultivos microbiológicos para guiar las intervenciones para minimizar el riesgo de transmisión de patógenos a un receptor, más allá de las pruebas séricas iniciales en donantes (VIH, VHC, HTLV, etc).

Así, el manejo adecuado de los riesgos debe incluir el uso de métodos microbiológicos validados con sensibilidad y especificidad precisas para detectar microorganismos patógenos, que pueden afectan a la seguridad del tejido a trasplantar.

La AATB aboga por que los sitios de recuperación sean evaluados para determinar riesgos utilizando criterios preestablecidos y diseñados para controlar la contaminación y la contaminación cruzada ya que las tasas de contaminación microbiana pueden variar conforme a las características microbiológicas del sitio de recuperación, los procedimientos de recuperación, el estado del donante, así como los riesgos potenciales del personal.

Se ha cuestionado que el lavado con abundantes cantidades de solución salina normal estéril solución de gentamicina (80 mg de gentamicina en 200-300 ml normal en salina, con una concentración entre 0,27 x 0,4 mg/ml) durante más de 10 minutos antes de la implantación podría apoyar la descontaminación realizada en el banco dado que estudio como el de Deijkers et al. encontraron que no era un método eficaz de descontaminación, mencionaron que el enjuague podría reducir contaminación por organismos de baja patogenicidad y dan lugar a un número reducido de aloinjertos ligeramente contaminados.

Sin embargo, se sabe que los organismos de alta patogenicidad se originan típicamente a partir de fuentes endógenas en el donante, generalmente de las vías respiratorias superiores o gastrointestinales.

El uso de cefalosporinas de primera o segunda generación para enjuagar los aloinjertos; con un espectro de acción relativamente similar al de los antibióticos profilácticos utilizados en cirugía es común pero no más eficaz que otros mientras la gentamicina, puede ser más eficiente contra los organismos de baja patogenicidad.

Sin embargo la infección por Estafilococo coagulasa negativo CoNS es un desafío tratar porque un número significativo de cepas son resistentes a la meticilina; por esa razón vario estudios reflejan el peligro potencial de infección por CoNS en el implante musculoesquelético ya que un número creciente de estudios recientes consideran que es uno de los principales patógenos nosocomiales por otra parte, dada la falta de propiedades de virulencia agresivas, CoNS rara vez ataca a un huésped sano por lo que afectaría a pacientes que necesitan aloinjertos para cirugías de revisión que son generalmente mayores y menos inmunocompetentes, y por tanto susceptibles a la infección cuando se reciben aloinjertos coNS positivos.^[32]

Esta guía es un esfuerzo del Invima para orientar en los temas de alta dificultad y riesgo elevado frente al desempeño de los bancos de tejidos. Con ello se busca ofrecer lineamientos tomados de autoridades regulatorias y asociaciones de expertos por lo tanto se consideran “las mejores prácticas” en los términos de la resolución 1229 de 2013. Cualquier directriz técnica que no los incluya deberá validarse conforme los procedimientos contenidos en la Guía correspondiente o los procedimientos aceptados por la comunidad científica mundial.

[1] EURO Good Tissue Practices European Union Project in the framework of the Public Health Program
<http://www.goodtissuepractices.eu/>

[2] Lo adecuado de un control depende del atributo o característica que se quiere medir en comparación con una especificación de referencia. Los controles en general son pruebas de laboratorio cuya suficiencia y pertinencia para lo previsto debe ser comprobada mediante una validación

[3] A.2.2.1.4. Environmental microbiological control

[4] https://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/env_monitoring_cleanrooms_final.pdf

[5] Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities Points to consider for manufacturers of human vaccines WHO, November 2012

[6] A.7.1.6. Recalls

[7] A.7.4. VALIDATION

[8] A.7.4.1. General

[9] Las pautas de estabilidad de ICH para condiciones y pruebas se siguen en todo el mundo para verificar la calidad del producto. Las pautas de ICH para las pruebas de estabilidad se encuentran en la guía Q1A (R2) - Prueba de estabilidad de nuevas sustancias y productos farmacéuticos: esta guía es para el análisis del producto para determinar su estabilidad en diferentes condiciones ambientales.

[10] B.3.1.4. Quality control

[11] B.3.1.4.1. Control microbiológico

[12] Farmacopea de los Estados Unidos de América. Versión vigente. Capítulo esterilidad

[13] B.3.1.4.1.2.1.

[14] Se deben respetar las propiedades de la placenta donante / membrana amniótica humana:

a) Tiempo de transporte de la placenta desde el quirófano (OR) al banco de tejidos menos más de 1 hora: mantener la temperatura de 2-40 ° C;

b) Tiempo de transporte de la placenta desde el quirófano al banco de tejidos - 1-48 horas: transporte a una temperatura ambiental adecuada para garantizar la seguridad / estabilidad del tejido, p. por uso de elementos refrigerantes;

c) Almacenamiento de placenta hasta su primera preparación: mantener una temperatura de 2-10 C,

p.ej. en refrigeración, en cuyo caso la preparación debe realizarse a más tardar seis (6) horas después de la recuperación;

Almacenamiento de placenta hasta su primera preparación: temperatura de -75 grados C a -85 grados C a ser mantenido (en congelador), en cuyo caso la preparación debe realizarse a más tardar seis (6) meses después de la recuperación. Además, para la distribución de la membrana amniótica humana criopreservada, los bancos de tejidos deben cumplir las siguientes condiciones mínimas de transporte necesarias para mantener el propiedades biológicas de la membrana requerida:

a) Transporte de membrana amniótica humana, dentro de los 10 minutos al quirófano

[15] *Acinetobacter baumannii*, *Beta-hemolytic streptococci*, *Burkholderia cepacia*, *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Corynebacterium diptheriae*, *Enterobacteriaceae* (coliforms), *Pseudomonas aeruginosa*

Staphylococcus aureus (MRSA/MSSA), *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp. Other yeasts and fungi *Mycobacteria* (in an ‘at risk donor’)

[16] *Clostridium* sp., *Clostridium perfringens*, *Clostridium tetani*, *Enterococcus* sp, *Flavobacterium meningiosepticum*, *Klebsiella rhinoscleromatis*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Nocardia* sp.

Pseudomonas aeruginosa or *pseudomallei*, *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Salmonella* sp., *Shigella* sp.*Streptococcus pyogenes* (group A), *Aspergillus* spp., *Candida* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp. Other yeasts and fungi *Mycobacteria* (in an “at risk donor”)

[17] de By TMMH, McDonald C, Suñer S, Davies J, Heng WL, Jashari R et al. Validation of microbiological testing in cardiovascular tissue banks: results of a quality round trial. *Eur J Cardiothorac Surg* 2017; doi:10.1093/ejcts/ezx178. estableció los resultados para un número importante de evaluaciones en una amplia cantidad de bancos de toda Europa con el fin de verificar las mejores prácticas. Las rondas de calidad permitieron identificar dónde los métodos de procesamiento utilizados son insuficientes y deben cambiarse acordando protocolos, aceptados por toda la comunidad de bancos de tejidos, para la validación del muestreo y las pruebas, teniendo en cuenta los diferentes parámetros utilizados en esos bancos de tejidos. Se evaluaron 20 bancos de tejidos participantes, sus regímenes de descontaminación de antibióticos, los métodos de enjuague de tejidos, la incubación postantibiótica (si existe) y la técnica de muestreo así como los resultados del cultivo microbiológica, como una manera eficaz de validar los procesos de los bancos de tejidos participantes.

[18] Soquet et al.citado por Mc Donald et al

[19] Leeming JP, Lovering AM, Hunt CJ. Residual antibiotics in allograft heartvalve tissue samples following antibiotic disinfection. *J Hosp Infect* 2005;60:231–34.

[20] Germain M, Thibault L, Jacques A, Tremblay J, Bourgeois L. Human valve allograft decontamination with antibiotics: impact of the temperature of incubation on efficacy. *Cell Tissue Bank* 2010;11:197–204.

Strickett MG, Barrat-Boyes BG, MacCulloch D. Desinfection of human heart valve allografts with antibiotics in low concentration. *Pathology* 1983;15:457–62., Citados por Mc Donald et al

[21] Leeming JP, Lovering AM, Hunt CJ. Residual antibiotics in allograft heartvalve tissue samples following antibiotic disinfection. *J Hosp Infect* 2005;60:231–34.

Gatto C, Giurgola L, Amato Thotova J. A suitable and efficient procedure for the removal of decontaminating antibiotics from tissue allografts. *Cell Tissue Bank* 2013;14:107–15.

Suss, P. H., Ribeiro, V., Cieslinski, J., Kraft, L., & Tuon, F. F. (2018). Experimental procedures for decontamination and microbiological testing in cardiovascular tissue banks. *Experimental biology and medicine* (Maywood, N.J.), 243(17-18), 1286–1301. <https://doi.org/10.1177/1535370218820515>

Jashari R, Faucon F, Hoeck BV, Gelas SD, Fan Y, Vandenbulcke S. Determination of residual antibiotics in cryopreserved heart valve allografts.

[22] Serafini, A., Riello, E., Trojan, D., Cogliati, E., Palù, G., Manganelli, R., & Paolin, A. (2016). Evaluation of new antibiotic cocktails against contaminating bacteria found in allograft tissues. *Cell and tissue banking*, 17(4), 619–628. <https://doi.org/10.1007/s10561-016-9581-6>

[23] Especies bacterianas frecuentemente aisladas en tejidos de aloinjertos recogidos en la Treviso Tissue Bank Foundation, un organización de referencia de la región del Véneto en Italia

[25] F.2.1.6.1.2.1. Euro GTP Guidance

[26] F.3.1.3.2.2. Euro GTP Guidance

[27] F.3.1.3.2.2.2

[28] F.3.1.4.

[29] F.3.1.4.1, F.3.3.4.1.2.1.

[30] F.3.1.6.1, F.3.1.6.2

[32] Fu S-H, Liu J-Y, Huang C-C, Lin F-I, Yang R-S, Hou C-h (2017) Quality control processes in allografting: A twenty-year retrospective review of a hospital-based bone bank in Taiwan. *PLoS ONE* 12 (10): e0184809. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0184809>

DEFINICIONES

Área Controlada: Un área construida y operada de tal manera que se controla la introducción de contaminación potencial y las consecuencias de la liberación accidental de microorganismos vivos. El nivel de control ejercido debe considerar los microorganismos saprofitos del área y las necesidades del proceso. Como mínimo, el área debe mantenerse a una presión negativa con respecto al entorno externo inmediato y debe permitir la eliminación eficiente de contaminantes en el aire. (DDMOT)

Área limpia: Un área que cuente con un control definido del medio ambiente con respecto a la contaminación con partículas o microbios, con instalaciones construidas y usadas de tal manera que se reduzca la introducción, generación y retención de contaminantes dentro del área. Ref: 2 ORGANIZACIÓN MUNDIAL DE LA SALUD, Serie de Informes Técnicos N°. 823 Informe 32, Anexo 1: Buenas Prácticas de Manufactura para Productos Farmacéuticos, Suiza, 1992, glosario páginas 18-23.

Bioburden o Biocarga: Es el nivel y tipo (objetable o no) de microorganismos que pueden estar presentes en las materias primas o en los productos finales. La carga biológica es contaminación cuando se han excedido los niveles permitidos por la validación o se hayan detectado organismos objetables pre-definidos así mismo. (DDMOT)

Contaminación: La introducción no deseada de impurezas de naturaleza química o biológica, o de material externo, dentro o sobre la materia prima, o producto intermedio durante la producción, muestreo, empaque o reempaque, almacenamiento o transporte. (DMPB). Ref: 4. MINISTERIO DE LA PROTECCION SOCIAL. Resolución 3028 de 2008 por medio de la cual se definen las áreas técnicas de producción de los establecimientos farmacéuticos y se establecen otras disposiciones. 2008. Acción y efecto que lleva a la presencia de sustancias extrañas, en especial, partículas o microorganismos, en una materia prima, material o producto terminado, como consecuencia de un acto imprevisto, erróneo o intencional. Presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables. La introducción no deseada de impurezas de naturaleza química o microbiológica, o de materias extrañas, en una materia prima o un medicamento de terapia avanzada durante el procesamiento, muestreo, envasado o reenvasado, almacenamiento o transporte. (DDMOT)

Crítico: Factor que potencialmente puede generar amenazas sobre la calidad y / o seguridad de células y tejidos. (DDMOT)

Especificación: Corresponde a la combinación de pruebas y criterios de aceptación físicos, químicos, biológicos y microbiológicos, que determinan la conformidad para la utilización de un Producto Farmacéutico Terminado y sus componentes. Descripción de un material, sustancia o producto, que incluye los parámetros de calidad, sus límites de aceptación y la referencia de los métodos a utilizar para su determinación. Documento que establece los requisitos mínimos que debe cumplir un servicio, bien o suministro. Una lista de pruebas, referencias a procedimientos analíticos incluyendo sus límites de aceptación específicos. Son criterios generalmente numéricos, rangos u otros criterios según el atributo indicado y la prueba descrita. Establece el conjunto de características a los que debe ajustarse un material, tejido/producto para ser considerado aceptable para su uso previsto. "Conformidad con la especificación" significa que, cuando se le realizan las pruebas de acuerdo con los procedimientos analíticos normalizados, cumple con los criterios de aceptación pre establecidos y verificados mediante validación. (DDMOT)

Fecha de caducidad (DDMOT): Designa el tiempo durante el cual se espera que el tejido mantenga las especificaciones de vida útil establecidas si se almacena en condiciones definidas, y después de las cuales no debe utilizarse.

Producto terminado (DDMOT): El tejido o su derivado siempre que se considere componente anatómico conforme a la normativa local, que ha pasado por todas las etapas de producción, incluyendo envasado en su envase final.

Trazabilidad (DDMOT): la capacidad de localizar e identificar el tejido / célula durante cualquier paso desde la obtención, pasando por el procesamiento, análisis y almacenamiento, hasta la distribución al receptor o la eliminación, lo que también implica la capacidad de identificar al donante y el establecimiento de tejido o la instalación de fabricación recibir, procesar o almacenar el tejido / células, y la capacidad de identificar al receptor (es). La trazabilidad también cubre la capacidad de localizar e identificar todos los datos relevantes relacionados con los productos y materiales que entran en contacto con esos tejidos / células.

ELABORÓ	REVISÓ	APROBÓ
Lina Melissa Gonzalez Garay Contratista Fecha de elaboración: 16/11/2021	Pedro Alexander Gonzalez Gutierrez Profesional Especializado Dirección de Dispositivos Médicos y Otras Tecnologías Nidia Nayibe Gonzalez Pinzon Contratista Jeisson David Martinez Pinzón Profesional Especializado Grupo Sistemas de Gestión Integrado Fecha de revisión: 19/11/2021	Mabel Constanza Barbosa Romero Profesional Especializado Dirección de Dispositivos Médicos y Otras Tecnologías Fecha de aprobación: 19/11/2021

Este documento ha sido visto 7 veces

Copia no controlada