

Control de calidad en equipos de Transfusión Sanguínea y en Soluciones para uso Parenteral

Róger Bolaños*
Ermila Rojas*

RESUMEN

En el presente informe se demuestra que el grado de contaminación por sustancias pirogenéticas en 480 muestras de equipos para transfusión sanguínea y en soluciones para uso parenteral, que se ofrecen en el mercado costarricense, alcanza cifras del 6,25 por ciento, puestas en evidencia mediante la prueba clásica en conejos. Las pruebas de seguridad para las mismas muestras fueron satisfactorias en todos los casos. Los autores sugieren que rutinariamente todos los productos de esta naturaleza sean controlados por una organización oficial especializada, tanto en lo que respecta a estas dos pruebas, como también a las de esterilidad, identidad e inocuidad. Esta organización podría, además, abocarse al control de calidad de productos biológicos.

INTRODUCCION

Algunas de nuestras instituciones asistenciales han seguido la buena política de exigir, a los fabricantes de equipos para transfusión sanguínea y de soluciones para uso parenteral, un control de calidad certificado, externamente, por un laboratorio capacitado para ello. En este sentido el Instituto "Clodomiro Picado", de la Universidad de Costa Rica, brinda servicios técnicos de asesoría a empresas, tanto nacionales como extranjeras, mediante el control de calidad de productos terminados, en la modalidad de control externo, y también en lotes en

proceso, como control interno en la línea de producción. Este servicio se inició en 1976 con los laboratorios Delka (hoy Delmed) de El Salvador, y posteriormente se ha asesorado a otros fabricantes como son, Fide, Farmaindustrias, Alcames, Terumo Corp. y C.C. S.S., aprovechando las facilidades y técnicas utilizadas en el control de nuestros propios productos (sueros antiofídicos). Dos pruebas son solicitadas con mayor frecuencia: prueba de pirogenicidad, orientada a la búsqueda de contaminación del producto con endotoxinas de bacterias Gram negativas (pirógeno) y prueba de seguridad, que tiene como objeto demostrar otro tipo de toxinas o tóxicos que pudieran, de estar presentes, hacer un producto peligroso para su uso en seres humanos. Ocasionalmente también son requeridas otras pruebas como la de esterilidad o la de identidad, pero no con la frecuencia deseable para estos productos, en donde cada lote debe tener un estricto control de rutina en todos estos parámetros, independientemente del control interno que realice el propio fabricante.

Hasta el presente, el Instituto ha efectuado el control de pirogenicidad y seguridad en 480 lotes que incluyen equipos desechables para venoclisis, cámaras para sangre, equipos descartables para administración de sangre y sus derivados, bolsas o frascos con solución de CPD, con solución de glucosa a al 5 por ciento, con solución isotónica de

*Instituto Clodomiro Picado, Facultad de Microbiología, Universidad de Costa Rica, Ciudad Universitaria, Costa Rica.

Cloruro de Sodio y agua destilada para inyecciones.

El presente informe tiene como objeto presentar los resultados de las 480 pruebas efectuadas en los últimos cuatro años y discutir algunas ideas sobre la necesidad de una organización oficial para el control de calidad de estos y otros productos inyectables.

MATERIALES Y METODOS

Ambas pruebas se efectuaron siguiendo las normas establecidas en la farmacopea de los Estados Unidos de América (8) y por la División de Estándares Biológicos de N.I.H. (7). Un resumen de ellas es el siguiente:

Pirógenos:

Utilizamos conejos de las razas California o Nueva Zelandia (ocasionalmente se han empleado conejos criollos), con pesos de 1500 a 3000 g los animales son mantenidos y trabajados en un área limpia, aislada de ruidos y libre de movimiento de personas. Tres conejos intervienen en cada prueba y son seleccionados en el día en que será efectuada, tomando en cuenta que sus temperaturas estén comprendidas entre 38,5 y 39,8° C y que entre los animales que van a constituir el grupo no hayan diferencias mayores de 0,5° C. Antes de la inoculación de cada conejo debe determinarse su temperatura basal, para lo cual se toman cuatro lecturas con un intervalo de media hora, siendo esta el promedio de las tres últimas; cualquier animal que en este lapso muestre variaciones mayores de 0,2° C con respecto a lecturas anteriores, será descartado del grupo. Solamente se utilizan conejos que han sido condicionados al ambiente y al manejo por parte de un determinado auxiliar; sus temperaturas se toman en el recto, mediante pares térmicos conectados a un termómetro eléctrico (Yellow Spring Instruments); los animales son inmovilizados manualmente, siempre por el mismo auxiliar. La inyección de las muestras se hace lentamente en la vena marginal de la oreja; se utiliza un volumen de 10 ml por kg de peso corporal para soluciones salinas o de glucosa y de 3 ml por kg para sueros con alto contenido de proteínas. Una vez inoculados, se continúa

tomando las temperaturas durante tres horas en intervalos de media hora.

Preparación de las muestras:

Para la prueba de pirógenos, las muestras de soluciones no requieren preparación adicional alguna, inyectándose directamente, excepto para las de anticoagulantes que deben ser tratadas adecuadamente (6); es conveniente que la muestra sea representativa de varias unidades de un mismo lote, por ejemplo cuatro o cinco. En el caso de equipos descartables para transfusión o de sus partes, se seleccionan no menos de 10 muestras de la producción de un día (lote), se lavan por perfusión lenta con 100 ml de solución salina estéril y libre de pirógenos y se lleva a cabo la prueba con esta solución de lavado.

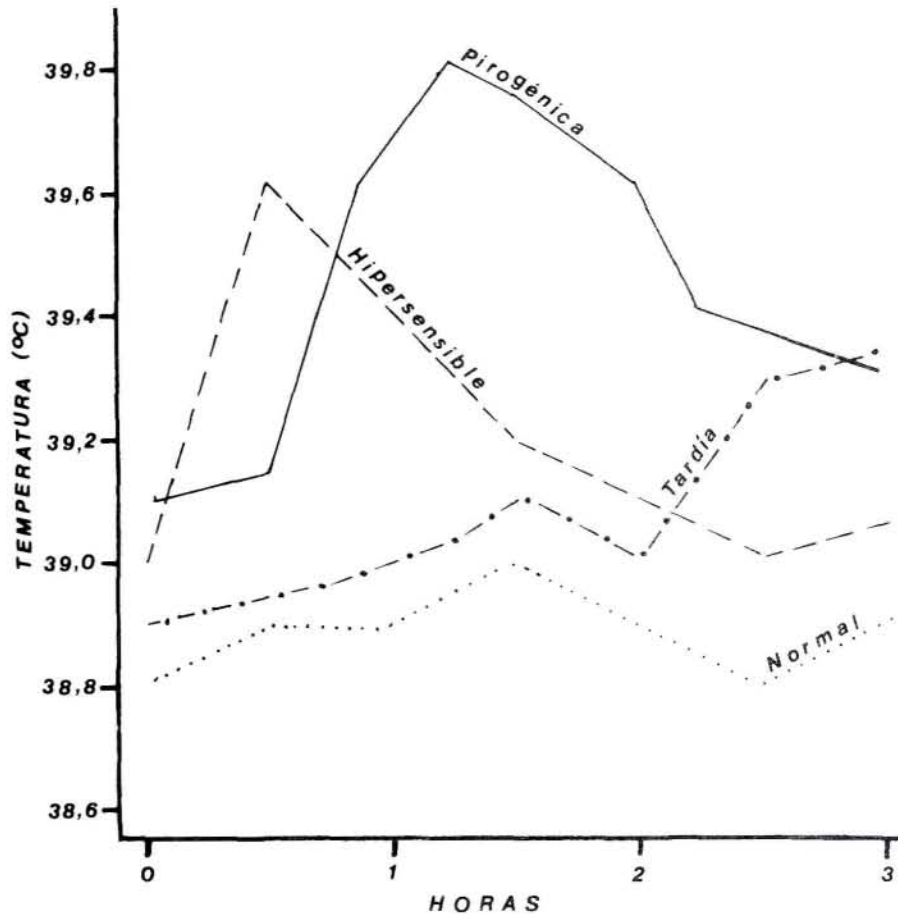
Interpretación de la prueba:

De conformidad con la farmacopea, la prueba es satisfactoria si ningún conejo del grupo muestra incrementos en la temperatura basal mayores de 0,6° C y si el total de los incrementos de los tres conejos no sobrepasa 1,4° C. Las pruebas no satisfactorias deben repetirse pero con cinco animales en lugar de tres. En nuestro laboratorio también aplicamos, para la interpretación de la prueba, un criterio que rutinariamente se emplea en Wellcome Foundation Ltda. (9) y que se ilustra en la Fig.1. Consiste en la clasificación de la respuesta de los animales en cuatro tipos de reacción: normal, de hipersensibilidad, tardía y pirogénica; de ellas solamente la última es importante en el control de calidad.

Prueba de seguridad:

Se practica en grupos de 5 ratones blancos de 17 a 23 g de peso, mediante la inoculación endovenosa (vena del rabo) o de 0,5 ml de la solución de prueba. En el caso de soluciones salinas o de glucosa la muestra se inyecta sin tratamiento previo alguno; en el de los equipos de transfusión, el material debe llenarse o sumergirse totalmente con solución salina estéril y calentarse a 85° C durante una hora; la solución salina se diluye a 250 ml y se inyecta en los animales. Al cabo de 48 horas de observación, ninguno de los ratones debe presentar signo al-

FIGURA 1
Ejemplos de los cuatro tipos de comportamiento térmico que puede presentarse en conejos sometidos a pruebas de pirogenicidad. Según (9).



gundo de alteración. Los anticoagulantes como ACD o CPD no pueden analizarse, pues los ratones no resisten su inoculación.

RESULTADOS

En el cuadro 1 se presentan los resultados de las 480 pruebas efectuadas a seis diferentes fabricantes. Puede observarse que todas las pruebas de seguridad fueron satisfactorias, no así las de pirogenicidad, las cuales resultaron positivas en un 6,25 por ciento del total de las muestras; la repetición de las pruebas positivas confirmó la pirogenicidad en todos los casos. Las muestras pirog-

nicas procedieron de cuatro fabricantes siendo las de los otros dos satisfactorias en su totalidad; sin embargo, en este último caso se aprecia que el número de muestras examinadas es tan pequeño que el dato, de ser analizado, carecería de significado estadístico.

DISCUSION

La endotoxina de bacterias Gram negativas es el pirógeno que mayores problemas ocasiona a los fabricantes de soluciones parenterales, gracias a su reactogenicidad y ubicuidad (5). La administración de productos

contaminados puede inducir escalofríos, fiebre, leucocitosis y leucopenia, alteraciones en la permeabilidad capilar, coagulación intravascular, necrosis hemorrágica, aborto y otras manifestaciones (2). Su presencia en los productos terminados es el resultado de contaminación bacteriana durante el proceso de fabricación o del uso de materiales previamente contaminados. Nuestros resultados indican un alto grado de contaminación (6,25 por ciento), máxime si se toma en cuenta que las muestras que son enviadas para análisis muchas veces han sido cuidadosamente seleccionadas por el fabricante con el objeto de obtener un certificado aceptable de la calidad de sus productos. En países técnicamente más desarrollados el problema se reduce prácticamente a cero, gracias al riguroso control interno que el mismo fabricante ejerce (6). Nuestros resultados deben llamar la atención de nuestras autoridades sanitarias pues demuestran la imperiosa necesidad de que el país cuente con una organización oficial en donde cada lote de productos inyectables (ya sean soluciones, productos biológicos o sus envases) sean debidamente controlados. Esta unidad no debe tener ningún nexo con los fabricantes, con el objeto de poder ejercer una libre y efectiva labor contralora. Pero, además, debe también exigírsele a los fabricantes su propio laboratorio de control interno, tanto para

productos terminados como para el control de materias primas y en línea de producción (1). El tipo de pruebas que han sido requeridas hasta el momento del Instituto "Clodomiro Picado" no abarca todas las que deberían practicarse de rutina; pruebas de esterilidad, apropiadas para bacterias (tanto aerobias como anaerobias) y hongos, son imperiosas; pruebas de identidad, que confirman la naturaleza del producto que se expende, también son de rigor; pruebas de toxicidad y calidad para materias primas y para envases, deben practicarse de rutina. Esta organización también debe estar en capacidad de controlar productos biológicos como vacunas, sueros y derivados de sangre, no sólo desde el punto de vista ya comentado, sino también en lo referente a potencia, estabilidad, inocuidad y efectividad del producto. La O.M.S. (3) ha insistido en la necesidad de tal tipo de organización en todos los países, sean fabricantes o no, y ha propiciado su organización a través de seminarios, cursos y asesorías (4); a pesar de sus buenos argumentos, son muy pocos los países de Latinoamérica que hasta el momento lo han hecho. Costa Rica cuenta con personal adecuadamente entrenado para el control biológico y con instalaciones en diferentes instituciones estatales y universitarias que podrían colaborar en esta empresa, bajo la coordinación de una contraloría oficial;

CUADRO I
RESULTADOS DE LAS PRUEBAS DE PIROGENICIDAD Y SEGURIDAD
REALIZADAS EN EL INSTITUTO CLODOMIRO PICADO
DURANTE CUATRO AÑOS

Fabricantes	Total de Muestras	Pirogenicidad TOTAL POR CIENTO		Seguridad no satisfactoria
1	60	3	5	0
2	10	4	40	0
3	3	0	0	0
4	3	1	33,33	0
5	10	0	0	0
6	394	22	5,58	0
TOTAL	480	30	6,25	0

solamente hace falta la decisión política y el respaldo legal para poder iniciar en el país este importante tipo de acción.

AGRADECIMIENTOS

Los autores desean dejar constancia de su gratitud a todo el personal del Instituto "Clodomiro Picado" que en alguna u otra forma colaboró en alguna fase de este trabajo. Este proyecto fue financiado en su totalidad con fondos de la Universidad de Costa Rica.

BIBLIOGRAFIA

- 1.- GREENBERG, L. Laboratorio de control de productos biológicos en América Latina. Bol. Of. Sanit. Panam. 78:494-500, 1975
- 2.- MILNER, K.C., J.A. RUDBACH and E. RIBI. General Characteristics. In: *Microbial toxins*, vol. 4, p 1-65; ed. G. Weinbaum, S. Kadis and S.J. Ajl. Academic Press, New York.
- 3.- Organización Mundial de la Salud. Comité de expertos de la O.M.S. en especificaciones para las preparaciones farmacéuticas. 26avo informe. 59 pp. 1977.
- 4.- Organización Panamericana de la Salud. Seminario sobre control de productos biológicos. Informe final 15 pp. 1977
- 5.- PERKINS, F.T. (Chirman). Summary and Recommendations. International Symposium on pyrogenicity, innocuity and toxicity test systems for biological products. Budapest 1976. Develop. biol. Standard., vol. 34, pp. 220. 224. S. Karger, Basel, 1977.
- 6.- PINTER, JUDIT, CECILIA ZSDANSKY and GY. GYORFFY. Pyrogen tests of infusions, blood anticoagulant solutions, plastic materials and rubber products. International Symposium on pyrogenicity, innocuity and toxicity test systems for biological products. Budapest 1976. Develop. biol. Standard., vol. 34, pp. 109. S. Karger, Basel, 1977.
- 7.- U.S. Department of Health, Education, and Welfare. Public Health Service. Regulations for the manufacture of biological products. Title 42, part 73. DHEW publications No. (NIH) 71-161, 1971.
- 8.- U.S. Pharmacopeia, XIX revision. p. 613. U.S. Pharmacopeial Convention, Inc., Rockville, Md. 1975.
- 9.- Wellcome Foundation Ltd. Quality Control Internal document on pyrogens. 1978.