

Implementación de un sistema cuantitativo de control de calidad microbiológico de nutrición parenteral

MIRANDA C D¹, CORIA P², ÁLVAREZ I³

1 Unidad de Farmacia. Hospital Pediátrico Dr. Luis Calvo Mackenna. Santiago (Chile)

2 Unidad de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud (IAAS). Hospital Pediátrico Dr. Luis Calvo Mackenna. Santiago (Chile)

3 Unidad de Coordinación Académica y de Investigación. Hospital Pediátrico Dr. Luis Calvo Mackenna. Santiago (Chile)

Fecha de recepción: 29/07/2022 - Fecha de aceptación: 29/08/2022

DOI: <http://dx.doi.org/10.4321/S1699-714X2024000200009>

RESUMEN

La nutrición parenteral (NP), su elaboración, esta reglamentada en nuestro país por la Norma Técnica N° 206 para la Elaboración de Nutriciones Parenterales en Recetarios de Farmacia, del Ministerio de Salud de Chile, promulgada Julio/2019, incluye controles de calidad, entre ellos el control microbiológico. Nuestro objetivo fue implementar un método de control de calidad cuantitativo, validado para este tipo de muestra. Se analizó la metodología actual realizada en el hospital y metodologías analíticas para este tipo de muestras y su factibilidad de implementación en relación a: costo, detección de microorganismos, tiempo del ensayo, volumen de

muestras, disponibilidad de insumos y su esterilización. Se optó por el método de filtración de Montejo y cols. Considera una muestra/contramuestra de 50 ml. Hasta el año 2018, fueron 414 controles, periodicidad 2 veces a la semana, en las diferentes unidades clínicas del hospital. Sólo 3 muestras positivas, los microorganismos identificados *Staphylococcus warneri* y *epidermidis*, positividad 0,48%. Sin repercusiones clínicas en los pacientes, con análisis de cada caso por un equipo multidisciplinario de hospital, lo que refuerza la capacidad de reacción precoz ante las alertas presentadas. Se logró implementar un protocolo estandarizado, replicable y accesible para los hospitales del sistema público de salud.

Palabras clave: **Nutrición parenteral, microbiología, control de calidad.**

Implementation of a quantitative quality control system microbiology of parenteral nutrition

SUMMARY

In Chile, the elaboration of parenteral nutrition (PN) formulae is regulated by Technical Standard No. 206 "For the Elaboration of Parenteral Nutrition in Pharmacy Prescriptions", issued by the Ministry of Health. Enacted in July 2019, it considers quality controls, including microbiological control. Our objective was to implement a validated quantitative quality control method for

this type of sample. We compared the methodology in use in the Luis Calvo Mackenna Hospital with a standardized analytical methodology. The feasibility of implementation was analyzed considering cost, microorganism detection capability, assay time, sample volume, and availability of supplies. The filtration method by Montejo et al. was chosen, considering a sample and a control sample of 50 mL each.

Controls were performed twice per week, totaling 414. Only 3 samples were positive. The identified microorganisms were *Staphylococcus warneri* and *S. epidermidis*, positivity rate was 0.48%. Each case was analyzed by a multidisciplinary team, and there were no clinical repercussions in the patients. The capability of early reaction in response to the alerts presented was improved. It was possible to implement a standardized, replicable and accessible protocol for the public health system hospitals.

Key words: **Parenteral nutrition, microbiology, quality control.**

INTRODUCCIÓN

La nutrición parenteral (NP), es una herramienta terapéutica que consiste en administrar los nutrientes por vía endovenosa, en pacientes en los cuales no se puede utilizar la vía digestiva o esta no cubre los requerimientos. Este "reposo digestivo" se puede deber a diferentes situaciones tales como gravedad del paciente, cirugías, intolerancias digestivas, vía oral no disponible, entre otras causas.

Se utiliza principalmente en pacientes hospitalizados, desde neonatos hasta pacientes geriátricos, según recomendaciones nutricionales de acuerdo con la edad, peso, estado nutricional y patologías concomitantes.

En nuestro país la elaboración de nutrición parenteral está regulada por la Norma Técnica (NT) N° 206 para la Elaboración de Nutriciones Parenterales en Recetarios de Farmacia, del Ministerio de Salud de Chile, publicada en el Diario Oficial en julio del año 2019¹, la que reemplaza a la anterior Norma N° 59 del año 2001². La NT N° 206 actualiza los requerimientos para las diferentes etapas, centrada principalmente en el proceso de elaboración de NP, considerando el tipo y calidad de la infraestructura, áreas de contaminación controlada, controles de calidad asociados a la infraestructura, operadores y preparados, funciones y competencias de personal involucrado en este proceso, registros de trazabilidad entre otros, todo esto liderado por un químico farmacéutico.

La composición de los preparados de NP consta de macronutrientes como aminoácidos, glucosa, lípidos y agua, micronutrientes (sodio, potasio, magnesio, fósforo), elementos traza (zinc, cobre, manganeso, yodo, flúor entre otros), vitaminas y en casos excepcionales fármacos de los cuales se disponga de datos de estabilidad en estas mezclas.

Por su composición, elaboración y vía de administración, este preparado debe mantener su esterilidad hasta el término de su administración. La *United States Pharmacopeia* en el capítulo N° 979, que menciona a los preparados magistrales estériles, clasifica a la NP de acuerdo a riesgo medio de contaminación microbiológica, ya que si bien se elaboran a partir de materias primas estériles, su elaboración considera adiciones sucesivas de nutrientes, en distintos pasos, lo que puede favorecer el quiebre de la técnica aséptica³.

Los preparados de nutrición parenteral son ricos en nutrientes que pudiesen favorecer el crecimiento bacteriano y de hongos, pero a su vez la composición y concentraciones presentes en estas mezclas tienden a inhibir su multiplicación, dadas la alta osmolaridad final, pH ácido y alta densidad energética total⁴. A su vez la presencia o ausencia de lípidos favorece el crecimiento de determinadas especies de microorganismos en forma selectiva.

A pesar de esto, existe una serie de microorganismos, tanto bacterias como levaduras, capaces de adaptarse a estas condiciones y contaminar preparados. Ya descritos por Didier en 1998⁵, los agentes reportados con mayor frecuencia son *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia marcescens*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Flavobacterium spp.*, y *Candida albicans*, los que se mantienen vigentes hasta la fecha.

Existen diferentes reportes de contaminación de NP, en el mundo y nuestro país. Estos eventos son poco frecuentes, sin embargo, cuando se presentan, son graves. En EE.UU. en

el año 2011 fallecieron 9 pacientes de un total de 19 expuestos producto de contaminación de NP con *Serratia marcescens*. Se detectó que la causa de la contaminación se produjo por la utilización de productos no estériles para la elaboración de aminoácidos, siendo liberados para utilización previo al término de pruebas de esterilidad⁶. En México, en 2019, se reportó un brote de infecciones del torrente sanguíneo (ITS) relacionado a la bacteria *Leclercia adecarboxylata*, asociado a la contaminación de nutrición parenteral⁷.

En Chile, reportes de prensa informaron en el año 2001, el fallecimiento de 5 pacientes prematuros de un total de 9 expuestos a NP elaborada en la Unidad de Farmacia de un centro asistencial del sistema público con *Bacillus cereus*⁸. No fue posible encontrar literatura publicada en revistas de especialidad de este incidente. Un segundo caso se reportó en el año 2019 en el que se describió una contaminación de NP por *Serratia marcescens* en productos fabricados por un proveedor externo de clínicas y hospitales tanto públicos como privados, por lo que se le decretó el cierre temporal de faenas⁹. Aun cuando no hubo notificación de pacientes fallecidos atribuidos directamente a este incidente, sí se produjo un considerable daño económico y clínico para los centros y pacientes, dado por el desabastecimiento secundario, ya que este recetario abastece aproximadamente al 80% de clínicas y hospitales del país⁹.

En este contexto, el Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna (HLCM), centro pediátrico de alta complejidad, construyó en el año 1998 la Central de Mezclas Intravenosas en la cual se elaboran los preparados de nutriciones parenterales para sus usuarios. Financiada a través de un proyecto FONDEF¹⁰, fue la primera de nuestro país disponible para los pacientes pediátricos del sistema público de salud. Actualmente es una subunidad del Centro de Costos de Farmacia, dependiente de la Subdirección Médica. Este hospital, a la fecha, cuenta con un total de 173 camas de las cuales 55 son camas críticas¹¹. Resuelve el total de las prestaciones garantías explícitas en salud (GES) para la pediatría lo que da cuenta de aproximadamente el 40% de su producción. En el año 2009, comenzó su Programa de Nutrición Parenteral Domiciliaria.

Desde un punto de vista productivo, a nivel global, la elaboración de NP se ha incrementado al doble en aproximadamente 10 años¹², lo que se ha explicado por la complejidad de las patologías en los pacientes y aumento de su sobrevida. Esta aseveración concuerda con los datos de nuestro hospital, ya que actualmente nuestra unidad tiene una producción que bordea las 6.600 unidades de preparados al año, duplicando la producción de sus años iniciales (tabla 1).

En nuestro hospital, hasta el año 2015 se utilizó una técnica de siembra en placas de agar y en caldo para realizar controles microbiológicos de estas formulaciones. Pensando en implementar una técnica estandarizada y de mayor confiabilidad y, gracias al gentil apoyo del Laboratorio de Microbiología del Hospital Clínico de la Pontificia Universidad Católica (que implementó esta técnica previamente), el año 2014 las Unidades de Farmacia y Laboratorios Clínicos junto a la Unidad de Control de Gestión del HLCM, realizaron un estudio comparativo de costos. El resultado fue que los costos totales (directos e indirectos) del método propuesto por este estudio (estandarizado), son significativamente inferiores al método que estaba en uso (no estandarizado). Este estudio está pendiente de publicación. Esto nos permitió

plantear un proyecto de desarrollo colaborativo de ambas unidades y la compra de equipos con el apoyo favorable de la Dirección. A fines de 2014 se inició la marcha blanca, y en febrero de 2015 se implementó el nuevo programa.

Control microbiológico de fórmulas de nutrición parenteral

Siembra en caldo corriente y agar sabouraud

En nuestro hospital, hasta el año 2015, el control microbiológico de estas fórmulas se realizó mediante la siembra directa de pequeños volúmenes de muestras en tubos de caldo corriente y placas de agar.

La siembra se realizaba en la Central de Mezclas Intravenosas bajo campana de flujo laminar horizontal y con técnica aséptica estricta. Del total de la producción diaria se seleccionaban tres unidades de preparados correspondientes al inicio, mitad y al término del proceso de elaboración. De cada una se extraían 3 mL, los que eran distribuidos en caldo corriente (bacterias), agar sabouraud (levaduras) y 1 mL era guardado refrigerado como contramuestra. Estas muestras eran enviadas al Laboratorio de Microbiología del hospital foliadas para su incubación al término de la elaboración del día. Los resultados eran informados de manera manual después de 7 días de incubación y las categorías de informe de resultados eran de negatividad o positividad de los tubos enviados.

Este método presenta varias desventajas:

1. no está estandarizado.
2. el volumen de muestra es muy pequeño lo que disminuye la probabilidad de detección de microorganismos.
3. la cantidad de muestras procesadas, pueden saturar la capacidad de un Laboratorio de Microbiología Asistencial.

Siembra en medio de cultivo líquido

En este método, las muestras se siembran directamente en caldos triptacasa-soya y tioglicolato. Se cultiva un volumen de al menos el 10% de la muestra, por ello si la NP es de 500 mL, un volumen idóneo es de al menos 50 mL para que la osmolaridad de la mezcla, no afecte el crecimiento microbiano. Ambos tubos se envían al Laboratorio y se incuban a 22,5°C y 32,5°C respectivamente, por 14 días. En esta técnica el medio debe ser esterilizado en forma líquida, una vez que está preparado. Existen preparados comerciales listos para uso, pero son de alto costo y de difícil disponibilidad. Requiere de un mayor número de días de incubación, y por lo tanto para emitir los resultados¹⁴. Estas características la hacen una técnica compleja de implementar y de alto costo.

Método de filtración (implementado en este estudio)

En este método (Montejo y cols. modificada), la fórmula es filtrada a través de un filtro de 0,45 m que contiene en su interior una membrana de nitrocelulosa. Esta membrana permite el pasaje de líquidos y retiene partículas superiores al tamaño del poro, de esta manera atrapa a los microorganismos que podrían estar presentes en la preparación. Para lograr filtrar la fórmula, se requiere de un sistema cerrado conectando el filtro a una bomba de vacío que genere la fuerza necesaria para que la mezcla traspase la membrana de 0,45 m. Posteriormente se extrae la membrana del filtro y se siembra en placas de agar sangre. La ventaja de este método es que se utiliza 70 mL de muestra de los cuales 50 mL son para cultivo y 20 mL se guardan como contramuestra, aumentando la ca-

Tabla 1. Producción de preparados de nutrición parenteral total, Central de Mezclas Intravenosas años 2008 a 2020, Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna

Año	Producción anual (unidades)
2008	2.983
2009	4.287
2010	3.475
2011	3.605
2012	4.333
2013	3.839
2014	4.277
2015	4.361
2016	4.179
2017	4.650
2018	5.446
2019	6.329
2020	6.614

pacidad de detección¹. La lectura de las placas se realiza diariamente hasta por un máximo de 7 días, dando chance de detección de bacterias de lento crecimiento y levaduras. Finalmente, es una técnica fácil de implementar metodológicamente, precio accesible y resultados en menor tiempo en relación a otras técnicas. La desventaja es que requiere la inversión inicial de la bomba de vacío y disponer de los filtros¹⁵.

OBJETIVO

Implementar un método de control de calidad cuantitativo, validado para este tipo de muestras y dar garantías de calidad y seguridad en el proceso de elaboración de NP. Por lo anteriormente mencionado, optamos por elegir la técnica de filtración.

MATERIALES Y MÉTODOS

Funcionamiento general del protocolo

El protocolo de control microbiológico de fórmulas de nutrición parenteral total involucra el trabajo conjunto de las Unidades de Farmacia (Central de Mezclas Intravenosas), Laboratorios Clínicos (sección Microbiología) y de Infecciones Asociadas a la Atención en Salud (IAAS).

La etapa de recolección y siembra se realizó en la Central de Mezclas Intravenosas desde donde se enviaron las placas ya sembradas al Laboratorio de Microbiología para continuar con la incubación, detección e identificación de microorganismos si los hubiera. Cualquier detección de crecimiento fue informada en forma inmediata a IAAS.

Selección de muestras

Las muestras fueron tomadas dos veces a la semana, considerando días de baja y alta producción, bajo la premisa de que los controles se deben hacer en diferentes momentos de carga laboral y con diferente profesional y técnicos, ya que al elaborar un mayor número de preparados y aumentar la variabilidad de los operadores, el riesgo de quiebre de la técnica aséptica estricta se acentúa.

¹ La United State Pharmacopeia en su capítulo N° 979 de preparaciones estériles, describió que la muestra para análisis de esterilidad no debe ser inferior de 20 mL, como volumen mínimo de detección de microorganismos¹³.

Para seleccionar las fórmulas que fueron a cultivo se realizó una aleatorización dentro de las fórmulas a elaborar en el día, considerando las unidades clínicas que las solicitaron para sus pacientes, con el fin de dar cobertura a todas unidades clínicas un período determinado de tiempo.

Aleatorización

De acuerdo a lo publicado por Montejo y cols.¹⁵, se realizó un control cada 30 NP producidas. Para NP con volumen resultante inferior a 1.000 mL, se debía elaborar 70 mL adicionales (para muestra y contramuestra). Si bien el autor recomienda que después de un período de puesta en marcha de 6 meses a un año y dependiendo de la negatividad de los resultados, se puede espaciar los controles cada 100 a 120 muestras, se decidió continuar con una muestra cada 30 NP, dado que no implica un costo elevado y con el fin de mantener la periodicidad del control microbiológico.

Las contramuestras, son guardadas en el Servicio de Farmacia, refrigeradas a temperatura entre 2 y 8°C y fotoprotectidas, por 7 días, hasta la obtención de los resultados finales. Actualmente la normativa vigente del año 2019, precisa que las contramuestras deben ser guardadas por al menos un mes y se debe guardar una contramuestra adicional diaria, en caso de ser solicitada por la autoridad sanitaria en investigación de contaminaciones, estudio de brotes u otras denuncias.

Detección microbiológica con técnica de Montejo y cols. (modificada)

El procedimiento de toma de muestra, filtración y siembra fue realizado en la Central de Mezclas Intravenosas, al término de la jornada de elaboración, bajo campana de flujo laminar horizontal y con técnica aséptica estricta, por el químico farmacéutico, asistido por un técnico de farmacia. El profesional químico farmacéutico seleccionó las unidades para control al interior del gabinete, le extrajo 2 muestras de 50 mL, cada una con jeringa estéril y luego procedió a armar el equipo de filtración estéril, ajustándolo a la bomba de filtración (imagen 1).

La muestra de 50 ml se filtró con ayuda de vacío a través de un filtro de membrana de nitrato de celulosa de 0,45 µm (membrana cuadrículada estéril 0,45 m 47 mm Policompany®). Se hace el alcance de que no se utilizó polisorbato 80 al 4% (Tween 80) como lo indicaba la técnica descrita por Montejo y cols.¹⁵. Este componente se utiliza para dis-

Imagen 1. Set de filtración y bomba de vacío utilizadas para control microbiológico de nutrición parenteral utilizado en método de filtración (adaptado Montejo y cols.)



gregar las mezclas de lípidos, evitando que tapen los poros de la membrana. Dado que, en este estudio, las mezclas de lípidos lograron traspasar adecuadamente la membrana y para eliminar un componente adicional de contaminación de la mezcla durante su preparación, se optó por no agregar este reactivo.

Finalizada la filtración, se extrajo la membrana de nitrocelulosa del set de filtración con pinza estéril y se depositó en una placa de agar sangre de cordero al 5%, provista por el Laboratorio de Microbiología, en la mañana del mismo día previsto para realizar los controles. Se tuvo especial cuidado en depositar el cuadrículado hacia arriba, con el fin de poder realizar la cuantificación de unidades formadoras de colonia (UFC) en caso de que hubiera crecimiento.

La placa cerrada y sellada por fuera con cinta de papel, se transportó en un contenedor exclusivo para este fin (entre 2-8°C), al Laboratorio de Microbiología para ser cultivada.

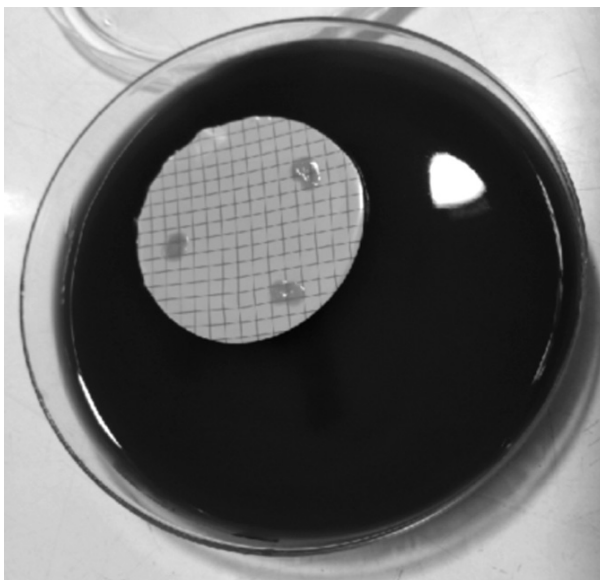
En el Laboratorio de Microbiología las placas se incubaron en estufa de CO₂ a 35°C por 48 horas estrictas y luego en atmósfera normal a 20°C (ambiental) por 5 días. Se realizaron lecturas visuales diarias por un total de 7, emitiéndose el informe final de resultados al día 7 en caso de resultar un cultivo negativo.

En el caso de detección crecimiento microbiano, la primera acción del tecnólogo médico del Laboratorio fue la de dar aviso inmediato a Comité de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud (IAAS), Jefatura de Farmacia y Encargado de NP en paralelo, de acuerdo al protocolo creado. Una vez realizado el aviso, se procedió a realizar el estudio microbiológico recuento de colonias, la identificación y estudio de sensibilidad de los agentes detectados. Asimismo, se procedió a solicitar a Farmacia la contramuestra para su estudio (imagen 2).

Procedimiento de aviso de muestras positivas

En caso de positividad de la muestra se procedió de la siguiente manera: aviso inmediato al Comité de Infecciones Asociadas a la Atención de Salud (IAAS), Jefatura de Farma-

Imagen 2. Placa agar sangre con membrana de nitrocelulosa 0,45 µm, con control microbiológico positivo, de muestra de nutrición parenteral



cia y encargado de NP. Desde Farmacia se procedió al envío de la contramuestra para análisis y se realizó monitorización en paralelo del paciente usuario de NP sospechosa y de los pacientes que recibieron NP proveniente de ese mismo lote de producción. La misma información se remitió a la Unidad de IAAS, quienes se contactaron con las Unidades Clínicas y médicos tratantes.

Lectura e interpretación de resultados

Para la interpretación de resultados se consideró tanto los resultados del Laboratorio como la indagación del impacto en los pacientes. Este análisis debe hacerse siempre en conjunto con el equipo de trabajo y dentro del contexto de un protocolo (tabla 2).

Resultados del estudio

El método de filtración resultó de fácil implementación. Hasta el año 2018, se realizó un total de 414 controles, con los siguientes resultados (tabla 3).

En un período de cuatro años, la Central de Mezclas Intravenosas del HLCM preparó en total 18.629 unidades de NP, realizándose control microbiológico a 414 de ellas (2,2%).

Del total de unidades cultivadas, se detectó dos muestras positivas en todo el período tanto en la muestra como en la contramuestra. El primer aislamiento fue detectado el año 2016, correspondiendo a un *Staphylococcus epidermidis*, con un recuento de 10 UFC. El segundo aislamiento se produjo el año 2018, siendo el agente un *Staphylococcus warneri*, con un recuento de 5 UFC. Habiendo sido encontrados el mismo agente tanto en la muestra como en la contramuestra, se interpretó a ambos crecimientos como contaminaciones de las fórmulas. Para cada caso se activó el protocolo de seguimiento clínico. Afortunadamente no hubo repercusión para los pacientes ni detección de nuevos casos.

DISCUSIÓN

Hay distintos tipos de controles de calidad. Cada uno evalúa diferentes variables de la producción y son complementarios entre sí. La suma de ellos es la que nos da una mayor garantía de seguridad durante los procesos, lo que puede repercutir directamente en la atención a nuestros pacientes. Dentro de ellos, controles visuales (cambios de coloración, presencia de turbidez, cualquier cambio que altere el aspecto visual normal de una preparación), controles analíticos¹⁶ (presencia o ausencia de componentes como sodio, potasio, glucosa, etc.), controles gravimétricos (detección de desviaciones del peso estimado para la preparación elaborada)¹⁶ y controles microbiológicos.

Como lo muestra la implementación de este estudio, en estos tiempos ha devenido en una estrategia imprescindible y por lo tanto obligatoria, para asegurar la calidad del producto, lo que finalmente quedó de manifiesto a través de la promulgación de la Norma Técnica N° 206 en mayo de 2019.

Contar con esta metodología nos ha permitido como hospital actuar de manera precoz, rápida y en forma multidisciplinaria, ante la aparición de alertas de posibles contaminaciones de los preparados, analizar las posibles causas y tomar las medidas más adecuadas, en relación al proceso y los pacientes y que estos últimos se vean afectados en la menor medida posible.

Tabla 2. Interpretación de resultados de control microbiológico, muestra y contramuestra

Muestra	Contramuestra	Interpretación de resultados
Negativa	Negativa	Negativo
Positiva	Negativa	Negativo. Contaminación posterior a elaboración
Positiva	Positiva, agente distinto a muestra	Negativo. Contaminación posterior a elaboración
Positiva	Positiva, mismo agente de muestra	Contaminación de la fórmula

Negativa: sin crecimiento microbiano; positiva: con crecimiento microbiano, cualquier recuento.

Tabla 3. Resultados de controles microbiológicos de unidades de nutrición parenteral, Unidad de Central de Mezclas Intravenosas del HLCM (2015-2018)

	2015	2016	2017	2018	Totales
Total de unidades NPT producidas	4.361	4.179	4.643	5.446	18.629
N° controles microbiológicos	109	124	102	79	414
N° controles microbiológicos reportados positivos*	0	1**	0	1***	2
% positividad controles	0,00	0,81	0,00	1,27	0,48

*Control microbiológico positivo: muestra y contramuestra positivas al mismo agente.

***Staphylococcus epidermidis*, 10 UFC.

****Staphylococcus warneri*, 5 UFC.

En nuestro hospital, la estabilidad promedio de un preparado de NP es de hasta 96 hrs, en condiciones de almacenamiento refrigerado, en contenedores de "bolsas multicapa" que impiden el paso del oxígeno y de fotoprotección (de la bolsa y la bajada) para impedir la degradación de los nutrientes. El tiempo de estabilidad físico-química varía entre 4 y 9 días en las distintas publicaciones^{16,17}, dependiendo de la calidad de los insumos a los que pueden acceder. En este sentido, el punto de inflexión está dado por el acceso a un contenedor de buena calidad (bolsa multicapa). La estabilidad microbiológica no está asegurada por la estabilidad físico-química. En nuestra experiencia abordamos esta arista realizando cultivos seriados de las contramuestras hasta el día 5, posterior a la elaboración, encontrando ausencia total de crecimiento microbiano durante el período observado¹⁸.

Respecto del momento en el que se realizan los controles, o la oportunidad para ofrecer un producto de máxima seguridad, en las búsquedas realizadas no fue posible encontrar una metodología analítica que permita anticiparse a la contaminación microbiológica de la NP, en las etapas previas a la administración a los pacientes.

En general es un producto que se administra inmediatamente después de preparado o hasta un plazo máximo de 96 horas (4 días), por lo que no es posible esperar el resultado del cultivo. Si bien el crecimiento microbiano se manifiesta en las primeras 24 horas de cultivo, el período de observación debe considerar al menos hasta el día 7 como mínimo para dar por negativa la presencia de bacterias y levaduras con buen margen de seguridad (para evitar falsos negativos). Por lo tanto, el control microbiológico es más bien un control de proceso, no de resultado final, ya que no se puede instalar como un validador para la liberación del producto para su uso.

La contaminación de estos preparados habitualmente tiene una carga baja de microorganismos, lo que dificulta su detección, situación que esta técnica mejora al aumentar el volumen testeado y dar la posibilidad de concentrar en una membrana a través de la filtración. Los resultados preliminares se obtienen dentro de las primeras 24 horas y los finales en 7 a 14 días, dando oportunidad de desarrollo a microorganismos de crecimiento lento. Si bien son eventos descritos en la literatura de baja frecuencia¹⁹, cuando se presentan son eventos que pueden ser graves en los pacientes, principalmente en aquellos más susceptibles como por ejemplo los pacientes inmunosuprimidos.

Al revisar legislaciones de diferentes países en el ámbito de elaboración de NP, éstas difieren en cuanto a realizar cultivos por la complejidad, alto costo, e incluso algunos analizan la posibilidad de controlar todos los preparados, lo que resulta inviable dentro de la práctica clínica, por la recarga de trabajo en todas las unidades involucradas en la preparación.

Aun cuando se encontró amplia información respecto de la regulación de la preparación de NPT, al buscar información relativa a normativa específica para control microbiológico, sólo se encontró información publicada en Chile y Brasil^{1,20}, de todos los países encontrados que tienen legislación sobre este tema (Paraguay, México, España y Argentina)²¹⁻²⁴.

Cabe destacar que estas últimas legislaciones no son normas exclusivas de NP, sino para preparados endovenosos estériles y magistrales en general respectivamente^{22,23}. Coinciden los autores en que tomar una muestra aleatoria para control microbiológico es de utilidad para evidenciar alguna falla dentro de los subprocesos de la elaboración de estos preparados. La pesquisa de crecimiento microbiano alerta sobre el quiebre de la técnica aséptica en alguna de las etapas involucradas, aun cuando no es capaz de detectar por sí sola el subproceso específico afectado.

Para sistematizar la búsqueda de la falla específica en el proceso productivo podemos agrupar las causas en tres grandes grupos: fallas humanas, de infraestructura y equipamiento y finalmente contaminación directa de los materiales de preparación, siendo esta última la menos habitual. Dentro de las fallas humanas, las más frecuentes son los aseos terminales deficientes y el quiebre de técnica aséptica durante la elaboración. Las fallas de infraestructura responden principalmente a áreas de preparación no validadas, gabinetes de bioseguridad sin certificación, control ambiental inadecuado, flujos de trabajo no unidireccionales y metodología de control microbiológico no validado. Esto es importante en relación a la falla en la detección de crecimiento microbiano. Como se analizó en la metodología, los métodos no validados ocupan una muestra de muy bajo volu-

men, por lo tanto, de baja carga microbiana si esta existiese, lo que resulta en una menor posibilidad de detección de crecimiento si lo hubiera. La contaminación de materiales de preparación es la menos frecuente, aun cuando siempre debe ser considerada. En este punto, debemos incluir insumos como bolsas, antisépticos y materias primas contaminadas dentro de las cuales los aminoácidos y el magnesio son los de mayor afectación⁶.

Como se mencionó anteriormente, dentro de la literatura encontrada, las normas legislativas señalan la indicación de hacer controles de calidad, sin embargo, la bajada técnica, el cómo hacer, no está disponible al menos en las búsquedas habituales de reglamentos técnicos. En contraste, la legislación chilena es un poco más específica en cuanto a señalar que se debe utilizar metodología indicada en la farmacopea o validada por el Instituto de Salud Pública (ISP)^{1,13}, yendo un poco más allá en lo técnico, indicando la calendarización de la toma de muestra de acuerdo al número de elaboración semanal, incremento de los controles a medida que aumenta la producción e incorporar en los controles de calidad diferentes pacientes con diferentes niveles de riesgo. En este sentido, nuestro estudio comenzó antes de la publicación de esta normativa y su desarrollo coincidió con la implementación gradual de la misma. Los resultados encontrados (prelegislación en Chile) fueron en sintonía con el objetivo propuesto por esta norma, es decir, al ir haciendo los controles con los medios adecuados, comenzamos a detectar crecimiento microbiano (en la antigüedad no había desarrollo), lo que nos hizo aumentar el grado de seguridad en la forma de trabajar, intencionar aún más el trabajo en equipo y estar conectados permanentemente para actuar en forma precoz ante una alerta de crecimiento microbiano y vincularnos rápidamente con los equipos clínicos para asegurar la monitorización precoz de la salud del paciente, de acuerdo al tipo de microorganismo aislado, también focalizar las acciones preventivas, aumentar el grado de exigencia respecto de las condiciones de la infraestructura completa de la central de preparación, relevándola institucionalmente como una zona crítica de infraestructura y de ambiente controlado.

Respecto del aseguramiento de la calidad de atención de los pacientes, algunas normativas, incluida la chilena, además del control microbiológico, indican el requerimiento de establecer un mecanismo paralelo de almacenamiento de contramuestras, una por lote de preparación, para tener en caso de requerir realizar un doble chequeo y/o frente a requerimientos de autoridad sanitaria¹. En Chile se indica almacenar estas muestras en frío por un mes. En otros países el plazo de hasta 7 días (Brasil)²⁰.

Otros, al implementar sus controles en una primera etapa, parten cultivando una muestra cada 10 NP, luego si se mantiene la negatividad de resultados, se distancia a una muestra analizada cada 30 NP producidas y por último, se mantiene la negatividad de los controles, pudiendo establecerse un cultivo cada 100 a 120 muestras¹⁵. Se decidió mantener una frecuencia de 1 cada 30 aproximadamente; ventajas de ello es que una vez que se consiguen los equipos, la técnica es relativamente simple, rápida, de bajo costo. En paralelo fue aumentando la producción, decidiendo mantener un nivel alto de seguridad dado el riesgo vital que implica para los pacientes el manejo de este tipo de preparados.

Un nuevo aporte de las técnicas estandarizadas incorporado a las nuevas versiones de la farmacopea, es el volumen mínimo a testear, bastando ahora con 20 mL, en contraste con el volumen de 50 mL utilizado en este estudio¹³⁻¹⁵.

Existe variabilidad de crecimiento microbiano en las diferentes formulaciones de NP, la que está determinada fundamentalmente por 3 puntos: presencia y concentración de macronutrientes, osmolaridad y pH²⁴⁻²⁶.

Distintos estudios observan el desarrollo de crecimiento bacteriano de acuerdo al tipo de macronutrientes presente en los preparados de NP con las siguientes características: glucosa/aminoácidos, glucosa/aminoácidos/lípidos y glucosa/aminoácidos/lípidos/vitaminas. Para los siguientes microorganismos, *Bacillus cereus*, *Serratia marcescens*, *Staphylococcus aureus* y *Candida albicans*, se vio que *B. cereus* y *S. marcescens* (ambos gramnegativos) crecen en los 3 tipos de mezclas, obteniendo el máximo crecimiento a las 48 hrs y, si a la mezcla se le agregan vitaminas y lípidos, se produce un incremento en el crecimiento a las 24 horas. Por su parte, *Candida albicans*, crece poco, pero se incrementa considerablemente con la adición de vitaminas y lípidos adicionados por separado o al mismo tiempo. *Staphylococcus aureus* no crece en mezcla 2:1², se incrementa levemente con la adición de lípidos y mayormente con adición de vitaminas y lípidos²⁷. Otros reportes describen que *C. albicans* crece en todo tipo de mezclas, inclusive 2:1, pero dependiendo de concentraciones variables de glucosa, siendo dependiente de la osmolaridad²⁷. Por lo tanto los microorganismos tienden a crecer mejor en medios enriquecidos con vitaminas, a pesar de tener mayor osmolaridad. A su vez, algunos microorganismos como *Staphylococcus spp* crecen mejor en medios con lípidos y menor cantidad de glucosa, explicado probablemente porque los lípidos son menos osmolaes que esta última. Por último, se observó buen crecimiento de *S. marcescens* y *Burkholderia cepacia* en suero glucosado, sin otros macronutrientes, probablemente por la menor concentración de glucosa en la solución y de la misma manera su menor osmolaridad.

El crecimiento de microorganismos también se ve afectado por el tipo de mezcla, pH, osmolaridad y densidad energética total de las mezclas (con o sin lípidos en reemplazo de glucosa). A modo de ejemplo si se aumentara el aporte calórico con glucosa, disminuiría la proliferación microbiana. Esto se explica en parte por el aumento de la osmolaridad de este nutriente. Al contrario, si se reemplaza las calorías aportadas por la glucosa esta vez por lípidos, ocurre la situación inversa ya que los lípidos poseen una menor osmolaridad, otorgando un menor valor final de osmolaridad al preparado. Los autores señalan que se debiera considerar esta situación, sin embargo, es inviable desde el punto de vista clínico, ya que limita los aportes nutricionales⁴.

Respecto del pH, la glucosa al 50% tiene un pH muy ácido por sí sola (valor 2), lo que eventualmente desfavorecería el crecimiento, sin embargo, los lípidos son de característica básica, con valores de alrededor de 6, lo que favorecería el crecimiento. Sin embargo, ya dentro de la fórmula preparada, no se observan grandes fluctuaciones en los valores de pH dado por el efecto buffer de los aminoácidos, siendo alrededor de valor 5 el pH observado en general y que se sitúa dentro de los rangos de estabilidad de la NP, en relación a sus propiedades fisicoquímicas^{28,29}.

Cabe destacar que los microorganismos más prevalentes en infección de catéter venoso central (CVC) asociado a NP son *Staphylococcus aureus* y *S. epidermidis*, sin embargo, no son los microorganismos más prevalentes encontrados en reportes de brotes de contaminación. De acuerdo a ello podemos concluir que si bien, los catéteres se contaminan con microorganismos comensales de la piel, éstos no son los más frecuentes en los aislamientos reportados en las fórmulas.

Los microorganismos descritos con mayor frecuencia en casos aislados de contaminación de NP son *Staphylococcus coagulasa* negativos como *S. epidermidis* y *S. aureus*. Por otra parte, los microorganismos aislados con mayor frecuencia en brotes son *Serratia marcescens*, *Enterobacter hormaechei*, *Acinetobacter spp*, *Burkholderia cepacia*, *Enterobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* y la levadura *Rhodotorula mucilaginosa*⁴ entre otros en el mundo. En Chile, alertas con algunos microorganismos coinciden con la literatura internacional publicada como *Serratia marcescens*, *Candida lusitaniae* y *Rhodotorula sp.*, *Enterobacter cloacae* y *Leclercia adecarboxilata*³⁰⁻³².

También se ha estudiado el desarrollo de bacterias y levaduras en sueros glucosados al 5% (considerando a la glucosa como un macronutriente), con reportes de crecimiento de *Candida albicans*, *Staphylococcus saprophyticus*, *Serratia marcescens* y *Burkholderia cepacia*^{5,27,33}. En formulaciones parenterales denominadas 2:1 (leer "dos en uno"), es decir 2 macronutrientes (aminoácidos y glucosa) contenidos en una misma fórmula, los microorganismos más prevalentes descritos son *Bacillus cereus*²⁷, *Serratia marcescens*, *Burkholderia cepacia*, *Candida albicans*, *Staphylococcus aureus*^{5,27}. En formulaciones 3:1 (lípidos, aminoácidos y glucosa), los microorganismos de mayor prevalencia son *Bacillus cereus*, *Candida albicans*, *Serratia marcescens* y *Staphylococcus aureus*.

CONCLUSIÓN

La contaminación de la mezcla puede ocurrir tanto en el proceso de elaboración o en la administración de las fórmulas⁵. Algunos de los puntos fundamentales que previenen la contaminación de la mezcla, son la elaboración y mantención adecuada de las áreas de producción, las que deben cumplir requerimientos de áreas de contaminación controlada, contar con personal altamente capacitado, utilizar técnica aséptica estricta, control con protocolos actualizados en forma permanente y capacitación continua³.

Las infecciones más prevalentes ocurren durante la administración, en la manipulación de catéter y sus conexiones e infección de flora comensal de la piel con una tasa de 14%³⁴. Si bien la etapa de la elaboración, no resulta ser la etapa más prevalente de contaminación microbiológica, produce eventos graves, asociados a, mayor mortalidad, sumado a este riesgo las fórmulas parenterales son consideradas medicamentos de alto riesgo³⁵. Contar con estos datos desde la implementación nos ha permitido corroborar que es un método sensible para la detección de crecimiento microbiano, con alertas precoces, aunque no inmediatas, permitiendo adoptar medidas rápidas en relación a los pacientes, formar equipos de trabajo interdisciplinario y reevaluar constantemente los procesos de elaboración.

En base a la experiencia adquirida y para lograr una buena sistematización del trabajo, recomendamos mantener la frecuencia de muestreo cada 30 o 40 bolsas, sin dis-

² Fórmula 2:1_ una fórmula compuesta por 2 macronutrientes (glucosa y aminoácidos)

minuir la frecuencia de testeo, aunque la positividad sea baja, dado el bajo costo de la técnica, privilegiando mantener un trabajo sistematizado. Aun cuando los programas de control de calidad son flexibles, aumentando o disminuyendo las frecuencias de testeo de acuerdo a la ocurrencia de error, la disminución de la frecuencia de los muestreos tiende a provocar un desincentivo a la sistematización del trabajo.

Agradecimientos: A la Dra. Patricia García, de Red UC Christus por autorizar a la autora para utilizar como base para este estudio la técnica de control microbiológico utilizada en el Laboratorio de Microbiología de Red de su Institución.

Conflicto de intereses: Las autoras declaran no tener conflicto de intereses.

BIBLIOGRAFÍA

- Ministerio de Salud Chile, Norma Técnica nº206 para la Elaboración de Nutriciones Parenterales en Recetarios de Farmacia (2019) páginas 1-56.
- Norma General Técnica N°59 Manipulación de medicamentos estériles en farmacias de hospitales (2001) páginas 1-62.
- The United States Pharmacopeia nº41 (2018) Capítulo 797:7024-46.
- Zingg W, Tomasz M, Martin M. Risk of parenteral nutrition in neonates-an overview. *Nutrients*. 2012;4(10):1490-503.
- Didier, M.E., Fischer, S., Maki, D.G. Total nutrient admixtures appear safer than lipid emulsion alone as regards microbial contamination: Growth properties of microbial pathogens at room temperature. *JPEN* (1998), 22, 291-296.
- ISMP Institute for Safe Medication Practices (2012) Sterile Compounding Tragedy is a Symptom of a Broken System on Many Levels (2012) October 18.
- Comisión Federal para la protección contra Riesgos Sanitarios (COFEPRIS), Comité Nacional para la Vigilancia Epidemiológica (CONAVE). Aviso Preventivo por brote de IAAS relacionado a Leclercia adecarboxylata, posiblemente asociado a contaminación de nutrición parenteral, 23 de mayo (2019). Disponible en: <http://bit.ly/C2019IAAS>.
- Diario La Tercera 24 de Noviembre (2019) Condenan al Fisco a pagar \$600 millones por muerte de trillizos en hospital de Talca.
- Nota Informativa ISP "Alerta respecto de contaminación microbiología en Nutrición Parenteral, febrero 2019" www.ispch.cl 15 de febrero (2019).
- Álvarez I., Osman Y., Artaza O., Morales J. La farmacia del hospital Luis Calvo Mackenna: debilidades y fortalezas *Cuad Méd Soc (Chile)* (2009), 49 (3): 202-208.
- Resolución Hospital Dr. Luis Calvo Mackenna Dotación de Camas (2020).
- Peggi Guenter, Beverly Holcombe, Jay M. Mirtallo, Steven W. Plogsted, John K. DiBaise Parenteral Nutrition Utilization: Response to Drug Shortages *JPEN* Volume 38 Number 1 January (2014) 11-12 DOI: 10.1177/0148607113511273.
- USP-NF(71)STERILITY TESTS Current Doc ID: GUID-481C30EA-8A49-4A77-9E81-D0CD7C533498_1_en-US).
- Estandarización del soporte nutricional especializado Grupo de Trabajo de Nutrición (Sociedad Española de Farmacia Hospitalaria) *Farm Hosp.* (2009);33 (Supl 1):1-107.
- Montejo O, Cardona D, Sánchez F, Rigueira AI, Coll P, Bonal J. Microbiological quality control study of "all-in-one" total parenteral nutrition admixtures. *JPEN.* (2000) May-Jun;24(3):183-6. doi: 10.1177/0148607100024003183. PMID: 10850947.
- Bernabéu Soria Beatriz, Mateo García Máxima, Wanden-Berghe Carmina, Cervera Peris Mercedes, Piñero Corrales Guadalupe, Sanz-Valero Javier. Desarrollo de la gestión de la trazabilidad de la nutrición parenteral en un hospital tipo. *Farm Hosp.* <https://dx.doi.org/10.7399/fh.2015.39.6.9689>.
- Boullata JI, Gilbert K, Sacks G, Labossiere RJ, Crill C, Goday P, Kumpf VJ, Mattox TW, Plogsted S, Holcombe B. A.S.P.E.N. clinical guidelines: parenteral nutrition ordering, order review, compounding, labeling, and dispensing. *JPEN.* (2014);(3),334-377. DOI: 10.1177/0148607114521833.
- Miranda D, Faúndez G, Navea D, Salas C. Garantía de calidad en nutrición parenteral: implementación de control de calidad químico y microbiológico *Rev. OFIL-ILAPHAR.* (2021) 31;2:191-195: <http://dx.doi.org/10.4321/S1699-714X20210002000014>.
- Simmons BP. CDC guidelines for the prevention and control of nosocomial infections. Guideline for prevention of intravascular infections. *Am J Infect Control.* (1983) Oct; 11(5):183-99. DOI: 10.1016/0196-6553(83)90079-2. PMID: 6316816.
- Portaria N° 272/MS/SNVS, Regulamento Técnico para fixar os requisitos mínimos exigidos para a Terapia de Nutrição Parenteral (1998) 1-63.
- Gobierno de Paraguay, Dirección Nacional de Vigilancia Sanitaria, Decreto N° 19.156 Reglamento Para la habitación y funcionamiento de establecimientos dedicados a la preparación, comercialización y distribución de mezclas de Nutrición Parenteral y de Nutrición Enteral. (2002):1-13.
- Diario Oficial de la Federación (México), Norma Oficial Mexicana NOM-249-SSA1-2010, Mezclas estériles: nutricionales y medicamentosas, e instalaciones para su preparación. (2011):1-25.
- Ministerio de Sanidad y Consumo, Real Decreto 175/2001 Normas de correcta elaboración y control de calidad de fórmulas magistrales y preparados oficiales. 2003 :1-16 24) Administración Nacional de Medicamentos, Disposición 2592/2003 Alimentos y Tecnología Médica, Normas de la preparación de Mezclas de Nutrición Parenteral Extemporánea. (2003): 1-18.
- Peter David Austin, KieSean Hand, Marinos Elia. Factors Influencing Escherichia coli and Enterococcus durans Growth in Parenteral Nutrition With and Without Lipid Emulsion to Inform Maximum Duration of Infusion Policy Decisions, *JPEN* (2014) Nutrition Volume XX Number X Month 1-13.
- Austin PD, Hand KS, Elia M. Systematic review and meta-analyses of the effect of lipid emulsion on microbial growth in parenteral nutrition. *J Hosp Infect.* 2016 Dec; 94(4):307-319. DOI: 10.1016/j.jhin.2016.08.026. Epub 2016 Sep 7. PMID: 27765342.
- Takashi Kuwahara, Shinya Kaneda, Kazuyuki Shimono, Yoshifumi Inoue. Emulsion and Multivitamins on the Growth of Microorganisms in Peripheral Parenteral Nutrition Solutions *Int. J. Med. Sci.* 2013, Vol. 10 2013; (10(9):1079-1084. DOI: 10.7150/ijms.6407.
- Daisy Miranda C, Carlos Castillo D, Saturnino De Pablo V. Alimentación parenteral. Factores ambientales y químicos asociados a su estabilidad *Rev Chil Pediatr.* (2007); 78 (3): 277-283.
- Miranda C. D., De Pablo S., Carlos Castillo D. Algunos factores asociados a la estabilidad de la nutrición parenteral en pacientes pediátricos. *Rev. O.F.I.L.* (2011)1:19-25.
- Andalo D. Third baby dies following TPN contamination (2014) [Disponible en: <https://www.pharmaceutical-journal.com/news-and-analysis/third-baby-dies-following-tpn-contamination/20065659.article?firstPass=false>].
- SkyNews. ITH Pharma Ltd charged over baby deaths and illnesses at hospitals. (2018). [Disponible en: <https://news.sky.com/story/ith-pharma-ltd-charged-over-baby-deaths-and-illnesses-at-hospitals-11540775>].
- Gupta N, Hocevar SN, Moulton-Meissner HA, Stevens KM, McIntyre MG, Jensen B, et al. Outbreak of Serratia marcescens bloodstream infections in patients receiving parenteral nutrition prepared by a compounding pharmacy. *Clin Infect Dis.* (2014) Jul 1;59(1):1-8. DOI: 10.1093/cid/ciu218. Epub 2014 Apr 11. PMID: 24729502; PMCID: PMC4305132.
- Austin PD, Hand KS, Elia M. Factors influencing Candida albicans growth in parenteral nutrition with and without lipid emulsion: using an established framework to inform maximum duration of infusion policy decisions. *Clin Nutr.* (2014) Jun;33(3):489-94. DOI: 10.1016/j.clnu.2013.06.019. Epub 2013 Jul 9. PMID: 23891160.
- Sriram K, Meguid MM. Addition of lipids to parenteral nutrition does not cause fungal infections. *Nutrition.* (2015) Nov-Dec; 31(11-12):1443-6. DOI: 10.1016/j.nut.2015.05.010. Epub 2015 Jun 4. PMID: 26429667.
- Institute for Safe Medication Practices. ISMP's list of high-alert medications. Huntingdon Valley (PA): ISMP; 2012. Recuperado el 20 de agosto de 2015 de: <http://www.ismp-espana.org/ficheros/Medicamentos%20alto%20riesgo.pdf>.

