

**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MEXICO**  
**FACULTAD DE QUIMICA**

---



**Pureza Microbiológicas de las Formas  
Farmacéuticas no obligatoriamente Esteriles**

**INES FUENTES NORIEGA**

**QUIMICA FARMACEUTICO BIOLOGO**

**1 9 7 3 .**



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

CLAS Tesis  
AÑO 1973  
FECHA  
PROG. Mat. 103



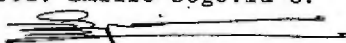
QUÍMICA

Presidente Prof.: Etelvina Medrano de Jaimes.  
Vocal Prof.: María Luisa García Padilla.  
Secretario " : Emilio Segovia G.  
1er. Suplente " : Mario Miranda Castro.  
2o. Suplente " : Alfredo Garzón Serra.

Sitio donde se desarrolló el tema: Laboratorios Scheramex, S. A.

Nombre y firma del sustentante: Inés Fuentes Noriega.

Nombre y firma del asesor del tema: Prof. Emilio Segovia G.



CARIÑOSAMENTE

A MIS PADRES

A MIS TIAS

A MIS HERMANOS

A MI ESPOSO

A MIS MAESTROS Y AMIGOS

ESTA TESIS SE REALIZO EN LOS LABORATORIOS SCHERAMEX,  
S.A., BAJO LA DIRECCION DEL Dr. EMILIO SEGOVIA, A QUIEN  
AGRADEZCO SU VALIOSA AYUDA.

EXPRESO MI GRATITUD A LA Srta. Q.F.B. GRACIELA  
SALAZAR, JEFE DEL DEPARTAMENTO DE DESARROLLO ANALITICO Y  
A LA Srta. Q.F.B. MARGARITA DURAN, JEFE DEL DEPARTAMEN-  
TO DE CONTROL DE CALIDAD, POR EL APOYO Y FACILIDADES QUE  
ME BRINDARON PARA LA ELABORACION DEL PRESENTE TRABAJO.

CONTENIDO.

I.- INTRODUCCION

II.- CONSIDERACIONES TEORICAS

III.- PARTE EXPERIMENTAL

IV.- RESULTADOS Y DISCUSION

V.- CONCLUSIONES

VI.- BIBLIOGRAFIA



PUREZA MICROBIOLOGICA DE LAS FORMAS FARMACEUTICAS  
NO OBLIGATORIAMENTE ESTERILES

INTRODUCCION. -

La función de todo medicamento es prevenir o curar determinadas enfermedades. obteniendo el mejor resultado terapéutico posible en el paciente.

En los últimos años se ha encontrado que en la administración de medicamentos no estériles se presentaban algunos trastornos que no eran ocasionados por la enfermedad del paciente ni tampoco podían atribuirse a efectos secundarios del medicamento.

A causa de estos hallazgos se realizaron investigaciones en las que se encontraron que algunos de estos medicamentos estaban contaminados por microorganismos que en ocasiones eran de trascendencia patógena, concluyéndose que eran éstos el origen de los problemas patológicos presentados.

Debido a estos descubrimientos, en el presente trabajo se lleva a cabo una investigación sobre la posible contaminación en distintas formas farmacéuticas sólidas (tabletas, grageas y cápsulas), tomando en consideración los siguientes objetivos:

- 1) Obtener una evaluación del grado de pureza en medicamentos no estériles y sus principales contaminantes en México.
- 2) Reflexionar sobre la importancia de establecer normas de Control de calidad en este tópico, en la producción a gran escala de los medicamentos no necesariamente estériles.

Para estos fines se efectuaron análisis microbiológicos a diferentes formas farmacéuticas, tomando en consideración el empaque final del producto. Así también, se analizaron diferentes materias primas y productos en proceso de fabricación.

## CONSIDERACIONES TEORICAS.

De acuerdo a su grado de esterilidad, el Comité de Control de Medicamentos de la Sección Industrial de la FIP de Francia - (1) clasificó las formas farmacéuticas en las siguientes categorías:

<u>CATEGORIAS</u>	<u>FORMAS FARMACEUTICAS</u>
1	Inyectables
2	Oftálmicas
3	De aplicación local
4	Otras formas (en ellas <u>en</u> tran las preparaciones <u>lí</u> quidas, grageas, tabletas y cápsulas.

Los problemas de la contaminación microbiológica de las -- formas farmacéuticas distintas a las parentales y a las oftálmicas, o sea cápsulas, tabletas, grageas y pomadas, no tuvieron gran preocupación para la profesión farmacéutica hasta 1963, en que su importancia se puso de relieve por la creciente aparición de accidentes terapéuticos provocados por la contaminación de medicamentos de uso oral o local, por microorganismos patógenos.

En 1958, se publicaron algunos artículos sobre la epidemia causada por Pseudomonas sp., en el Hospital Kings County de Nueva York, llegando a la conclusión de que la epidemia fué ocasionada por la solución de detergentes contaminados, que era usada para el lavado del material (2).

En 1965 se informó de una epidemia por Salmonella cubana - en un hospital de Estados Unidos a causa del uso del polvo de carmín en la investigación de anomalías intestinales (3).

En 1971 se hizo un estudio por el Public Health Laboratory Service sobre la calidad microbiológica de medicamentos utilizados en varios hospitales, y sus resultados indicaron que de -- 1220 muestras de diferentes medicamentos, el 32% estaba contaminado (4).

La seguridad del concepto de pureza microbiológica, indispensable en un medicamento tiene por objeto:

1) Evitar una extensa producción de riesgos considerables en la producción y distribución de medicamentos en gran escala.

y 2) Lograr la máxima estabilidad de los medicamentos, durante su vigencia, ya que la contaminación puede causar una degradación del producto (1).

FACTORES QUE INTERVIENEN EN LA CONTAMINACION DE LAS FORMAS FARMACEUTICAS NO OBLIGATORIAMENTE ESTERILES (CAPSULAS, TABLETAS, GRAGEAS, POMADAS Y JARABES).

Existen varios factores que hay que tomar en consideración cuando se habla de contaminación por microorganismos:

- 1) Origen y naturaleza de las materias primas.
- 2) Procedimientos de fabricación e higiene.
- 3) Substancias activas que intervienen en la fabricación del medicamento.

Estos factores han sido generalmente descuidados desde el punto de vista microbiológico (1).

ORIGEN Y NATURALEZA DE LAS MATERIAS PRIMAS.- Las materias primas de origen biológico, animal o vegetal, por razones evidentes ligadas a las condiciones de recolección y empaque son las que presentan los problemas más agudos de contaminación microbiológica; lo mismo ocurre con algunos productos de origen microbiológico.

Los tipos de microorganismos que más frecuentemente se presentan son los considerados como no patógenos, habiendo excepciones en las que aparecen especies patógenas especialmente de la flora intestinal. El número de microorganismos en estos productos llega a ser del orden de millones/gramo, especialmente para las especies no patógenas.

Las materias primas de origen sintético o sustancias de origen biológico aisladas al estado puro son menos propensas a la contaminación debido a su modo de fabricación y purificación con solventes orgánicos y porque algunas no tienen las propiedades de

medio nutriente como las otras. Aquí el número de microorganismos no pasa de 100/gramo. En este caso hay excepciones como vitaminas, lactosa, esteroides, talco, carbonato de magnesio, etc., en las que se puede llegar a encontrar una gran contaminación.

Millet (5) y Westwood (6) mencionan la necesidad de establecer controles microbiológicos en las materias primas de las preparaciones farmacéuticas. A este respecto, consideran el determinar el contenido de microorganismos al recibir el material y hacer análisis periódicos si se almacenan durante largo tiempo.

PROCEDIMIENTOS DE FABRICACION E HIGIENE.- Las formas farmacéuticas que son elaboradas en condiciones no estériles o no asépticas, no han sido hasta ahora motivo de gran preocupación en lo que se refiere a la posible contaminación de microorganismos, ya que las vías por las cuales se administran (oral o tópica) proveen mecanismos de defensa suficientemente efectivos para evitar que se implante una infección. Sin embargo, existen factores que alteran estos mecanismos como por ejemplo, las condiciones en que se encuentra el huésped, el tipo y el número de microorganismos presentes, etc. Por esta razón es importante una estricta vigilancia en las preocupaciones que se tomen en la fabricación, considerando locales, aparatos, higiene del personal, agua que se utiliza (de purificadores, tuberías, recipientes y filtros) y medio ambiente (edificio en general, instalaciones, etc.). Todos ellos deben tener un control tanto de inspección como de análisis periódicos, especialmente en la higiene del personal que interviene en cada paso de la fabricación. Por otra parte, el estudio comparativo de métodos de fabricación señaló el riesgo inherente en ciertos casos, por ejemplo el granulado húmedo en las tabletas, el cual se acompaña de la evaporación del agua a una temperatura que puede favorecer el desarrollo de microorganismos.

SUBSTANCIAS ACTIVAS DEL MEDICAMENTO.- El desarrollo microbiológico se puede producir en formulaciones a base de proteínas y aminoácidos, que son elementos muy nutritivos para las bacterias y

también en preparaciones que aunque como medios nutrientes son muy pobres, son efectivas para ciertas especies de microorganismos dotadas de un poder de síntesis elevado (v.g., Pseudomonas) (2), (7), (8) y (9).

Las formas farmacéuticas que tienen los problemas más agudos contienen en su mayoría materias primas contaminadas masivamente, como en el caso de las de origen biológico (6).

La multiplicación microbiológica se puede producir también en las preparaciones que contienen agentes conservadores y sobre todo en las líquidas o semisólidas de base acuosa (8), (10), (11) y (12). En este último caso las especies más frecuentes fueron bacilos gram-negativos, Enterobacterias y Pseudomonas. Estos últimos tienen resistencia a los agentes conservadores ya que algunas veces los utilizan como fuentes de carbono. (1), (2), (8), (10) y (13).

En la mayoría de las formas farmacéuticas sólidas pueden sobrevivir las especies resistentes a la desecación, como los bacilos aerobios esporulados, cocos y hongos.

#### ESPECIFICACIONES MICROBIOLÓGICAS.-

La búsqueda de las diferentes especies de microorganismos resulta muy difícil debido a que la contaminación no es homogénea ni predecible.

De acuerdo con los últimos estudios efectuados sobre contaminación en estas formas, y tomando en cuenta la presencia de los microorganismos más frecuentes, se consideró buscar específicamente las especies que se consideran patógenas en este medio: Salmonella, Pseudomonas, Estafilococos, E. Coli y en general los coliformes. Según la vía de administración de las formas farmacéuticas, estos microorganismos se consideran como patógenos directos o como especies indicadoras (llamadas así porque su presencia nos indica una mala fabricación en cuanto al concepto de-

higiene y limpieza), sobreentendiendo que en ciertos casos los dos caracteres pueden estar superpuestos. (1) y (4).

En general, la contaminación por microorganismos no patógenos no se busca específicamente, sólo se analiza la cantidad de microorganismos tanto patógenos como no patógenos en una muestra dada. No se sabe realmente cuán peligrosos puedan ser estos microorganismos, que generalmente se encuentran en un número mayor de 10 000/gramo ó ml. En un artículo reciente se reportó -- el aislamiento de aflatoxinas (principios tóxicos) a partir del *Aspergillus flavus* (6).

La presencia de 10 000 microorganismos/ gramo ó ml. implica la necesidad de ver las posibilidades de reducir este número, -- prestando mayor atención a los factores que intervienen en dicha contaminación (4).

También se busca la presencia de hongos y levaduras, aunque no específicamente, ya que éstos son indeseables y se deben evitar. Existen muy pocas especies de este grupo en las que se demuestre su patogenicidad, sin embargo, por su amplio habitat -- (suelo, aire, plantas) su hallazgo indica que el producto ha sido mal manejado, además de las alteraciones que puedan causar -- (mal olor, fermentaciones) dando lugar a la descomposición del producto.

Se debe hacer notar que los microorganismos tolerados en estas formas farmacéuticas se encuentran en estado estático, es decir que no están en posibilidades de multiplicarse. En algunas de estas formas no será difícil mantener este estado, no así en otros casos, en los que el producto puede ser un medio nutriente resultando una multiplicación microbiana más o menos rápida (1).

#### ➤ MICROORGANISMOS PATOGENOS.- CONSIDERACIONES.- (13)

**SALMONELLA.**- Es un bacilo móvil gram negativo, patógeno para el hombre y animales por vía oral. Las infecciones que causan: fiebre tifoidea, gastroenteritis y septicemia. Su presencia

nos indica que el producto fué contaminado con heces provenientes del hombre o animales. Aparte de los casos francamente clínicos-existen las personas llamadas "portadoras" que son la fuente de contaminación más importante, por lo difícil de su control porque no es posible identificarlos, debido a que no presentan los síntomas de la enfermedad.

**PSEUDOMONAS.**- Son bacilos gram negativos móviles. Este género se encuentra ampliamente distribuido en la naturaleza (suelo; agua, aguas negras y aire). Es patógeno cuando es introducido en áreas que carecen de las defensas normales o cuando participa en infecciones mixtas. La especie más importante desde el punto de vista de patogenicidad es Ps. aeruginosa que se presenta frecuentemente en pequeña proporción en la flora intestinal normal y en la piel, produciendo infecciones severas en heridas e infecciones en el tracto urinario cuando el bacilo se acarrea por catéteres, instrumentos o soluciones de irrigación. Son difíciles de atacar por su alta resistencia a los agentes antimicrobianos.

**ESTAFILOCOCOS.**- Se definen como células esféricas gram-positivas, generalmente agrupadas en racimos irregulares. Las especies patógenas generalmente son hemolíticas y coagulan el plasma; algunas son miembros de la flora normal de la piel y mucosas del hombre, en tanto que otras provocan supuraciones, diversas infecciones piógenas y septicemias de elevado índice de mortalidad. -- Estos microorganismos desarrollan rápidamente cepas resistentes a la mayoría de los antibióticos planteando problemas de tratamiento de difícil solución. Entre las especies patógenas invasivas está el S. aureus, que es el que se busca específicamente en las formas farmacéuticas mencionadas.

La importancia que tiene esta especie es que son parásitos exclusivamente del hombre, pudiendo saber fácilmente la fuente de contaminación cuando se detecta su presencia.

**BACTERIAS COLIFORMES (E. coli).**- Son bacilos gram negativos que pueden formar cadenas. Estas bacterias forman parte de la flora normal del tracto intestinal, del cual no provocan enfermedad

y pueden incluso contribuir al funcionamiento normal y a la nutrición; no obstante cuando alcanzan tejidos fuera del tracto intestinal, particularmente el tracto urinario, vías biliares, etc., se transforman en patógenos. Su presencia nos indica que hubo -- contaminación fecal, especialmente cuando se encuentra E. Coli.

#### - METODOS. -

Las técnicas para la identificación de estos microorganismos tienen en cuenta las características del producto a examinar, o sea la existencia de agentes conservadores, la solubilidad del -- producto, la naturaleza de los excipientes y el grado de contaminación teórico. Ya en varias publicaciones (1), (4) y (14) se -- han dado a conocer diferentes métodos, pero no se han practicado como controles de rutina.

#### NORMAS. -

Estas formas farmacéuticas hasta ahora no han sido objeto de exigencias particularmente estrictas en lo que concierne a la ausencia de bacterias viables en una cantidad dada del producto (1). Ningún país se ha puesto de acuerdo en los límites del número de microorganismos/ g. ó ml. La Farmacopea Internacional (15) especifica que este número no debe ser mayor que el permitido para -- alimentos en el país de que se trate. La U.S.P. (16) y el N.F. -- (17) establecen pruebas para la presencia de microorganismos aeróbicos viables y la tolerancia de las especies microbiológicas específicas. En 1972, el Comité de Laboratorios y Servicios Oficiales del Control de los Medicamentos y de la Sección de los Farmacéuticos de la Industria de la FIP en Francia (1), propuso varias exigencias para el caso de esta formas farmacéuticas, llegando a aceptar normas variables, ya que en unas es indispensable exigir -- menos de 100 microorganismos/g ó ml, y en otras se puede tolerar un número un poco más elevado, imponiéndose excluir específicamente los microorganismos patógenos y los indicadores de contaminación.



Los límites establecidos por dicho Comité, según las exigencias de pureza microbiológica, incluyendo las formas farmacéuticas estériles, se presentan en la Tabla I.

TABLA I

LIMITES DE CONTAMINACION DE MICROORGANISMOS EN FORMAS FARMACEUTICAS PROPUESTOS POR EL COMITE DE LABORATORIOS Y SERVICIOS OFICIALES DEL CONTROL DE LOS MEDICAMENTOS Y DE FARMACEUTICOS DE LA INDUSTRIA DE LA FEDERATION INTERNACIONAL PHARMACEUTIQUE (1).

Categoría	Productos	Requerimientos
1	Productos Inyectables	Esterilidad según las condiciones de la Farmacopea.
2	Productos oftálmicos (destinados a aplicarse en las cavidades corporales normalmente exentas de bacterias)	Ausencia de bacterias viables en 1 g ó ml.
3	Productos de aplicación local.	Límites $10^2$ microorganismos viables/g ó ml, y entre ellos: Ninguna Enterobacteria. " Ps. aeruginosa " S. aureus
4	Otras Formas Farmacéuticas	Límite en microorganismos viables: $10^3$ microorganismos/g ó ml. Ausencia de Enterobacterias en 1g o ml. Ausencia de Ps. aeruginosa en 1g o ml. Ausencia de S. aureus en 1g o ml. Límite para hongos y levaduras viables: $10^2$ microorganismos/g ó ml.

En algunas formas farmacéuticas de la categoría 4 a base de productos crudos de origen natural, se admitió la presencia de algunas Enterobacterias (20 microorganismos/g.), sin incluir especies de Salmonella, Shigella y E. coli, en una cantidad dada del producto.

Se sobreentiende que si se encuentra alguna especie patógena no mencionada aquí, llevará consigo el rechazo del producto - (1).

#### FRECUENCIAS DE CONTROL.-

El examen sistemático para cada lote va ligado al aviso de los responsables de análisis en la Industria Farmacéutica, en base a su experiencia y al cumplimiento y respeto de las Reglas de Buena Fabricación (Good Manufacturing Practices).

Se recomienda practicar el análisis por lo menos una vez al mes, en las formas farmacéuticas no estériles que están sujetas a una gran variación en el contenido de bacterias, por ser un rico medio nutriente. En los otros casos, los controles se pueden efectuar de una manera esporádica, y en el momento en que se encuentre alguna anomalía, se requerirá efectuar un análisis profundo en los diferentes lotes de la forma farmacéutica dudosa (1).

## PARTE EXPERIMENTAL.-

Se hizo un estudio microbiológico en las materias primas necesarias en la fabricación de las formas farmacéuticas no obligatoriamente estériles analizadas: tabletas, cápsulas y grageas, -- así como también diferentes productos en proceso. Este estudio se muestra en la tabla II a continuación:

TABLA II

NUMERO DE MUESTRAS DE MATERIAS PRIMAS Y PRODUCTOS EN PROCESO ANALIZADOS	
Productos en proceso	No. de muestras analizadas.
Tabletas	4
Núcleos de grageas	1
Granulado	2
Cápsulas	2
MATERIAS PRIMAS	
	No. de muestras analizadas.
Lactosa	2
Almidón de maíz	2
Manitol	1
Propilenglicol	1
Tálco	1
Amijel	1
Acacia	1
Polivinilpirrolidona	1
Estearato de magnesio	1
Cápsulas vacías	1

También se efectuaron análisis microbiológicos en las siguientes formas farmacéuticas existentes en el mercado, tomando en cuenta el empaque final. El número de muestras tomado en cada forma farmacéutica aparece en la Tabla III.

TABLA III

NUMERO DE MUESTRAS ANALIZADAS DE CADA FORMA FARMACEUTICA		
Forma farmacéutica	Número de muestras	
	En tira o blister	En frasco
Tabletas	8	11
Grageas	10	11
Cápsulas	9	10

## METODOS.-

✓ DETERMINACION DEL NUMERO DE MICROORGANISMOS AEROBICOS TOTALES.-

Se utilizaron el Método del Tubo Múltiple y el Método de placa, según la solubilidad que presentó el producto (16) y (17).

Para los dos métodos mencionados se suspendieron 5g de la muestra (6 5 ml en muestras líquidas) en solución amortiguadora de fosfatos. Se aforó a 50 ml, obteniendo una concentración al final de 100 mg/ml. Para muestras que contenían gelatina o sustancias con características parecidas, después de haberlas suspendido en solución amortiguadora se las puso 15 minutos con agitación en bañomaria a 45°C para la disolución total.

METODO DE PLACA.- Para muestras muy solubles o translúcidas se colocó 1 ml de la solución final en 2 cajas petri estériles, se adicionó a cada caja medio de Agar de Soya Tríplica estéril (manteniendo la temperatura a 45°C); Se incubó de 48 a 72 h. a temperatura de 30 a 35 C (16 y (17). Después de la incubación se contaron las colonias presentes, expresando el resultado como el promedio de las 2 cajas y se obtuvo el número de microorganismos/0.1g 6 ml, que al multiplicarlo por 10 dió el número de microorganismos/gr 6 ml.

METODO DEL TUBO MULTIPLE (Figura 1).- Se utilizaron 14 tubos y se agregaron a cada uno 9 ml de Agar de Soya Tríplica; 12 de los tubos se arreglaron en 4 grupos de 3 tubos cada uno, quedando 2 -- por separado a los que se les designó como Tubo A y Tubo B respectivamente. Uno de los grupos de 3 tubos se usó como control, a -- los otros se les numeró como Grupo 100, Grupo 10 y Grupo 1. En cada uno de los tubos del Grupo 100 y en el Tubo A se colocaron 1 ml respectivamente de la solución o suspensión final de la muestra y se agitó. Del tubo A se tomó 1 ml de su contenido y se agregó al tubo B (el cual, lo mismo que el tubo A, no estaban incluidos en ningún grupo), y se agitó. Estos dos tubos contenían 100 mg (6 --

0.1 ml) y 10 mg (ó 0.01 ml) de la muestra respectivamente. En un segundo grupo (Grupo 10) de 3 tubos, se colocaron en cada uno, 1 ml del contenido del Tubo A; y en cada tubo del tercer grupo (Grupo 1) se colocó 1 ml del Tubo B. Se descartaron los contenidos no usados de los Tubos A y B, y a los demás se les incubó a 30-35°C por 24 a 48 h y según la Tabla IV se interpretaron los resultados del número más probable de microorganismos/g-ó ml de muestra (16).

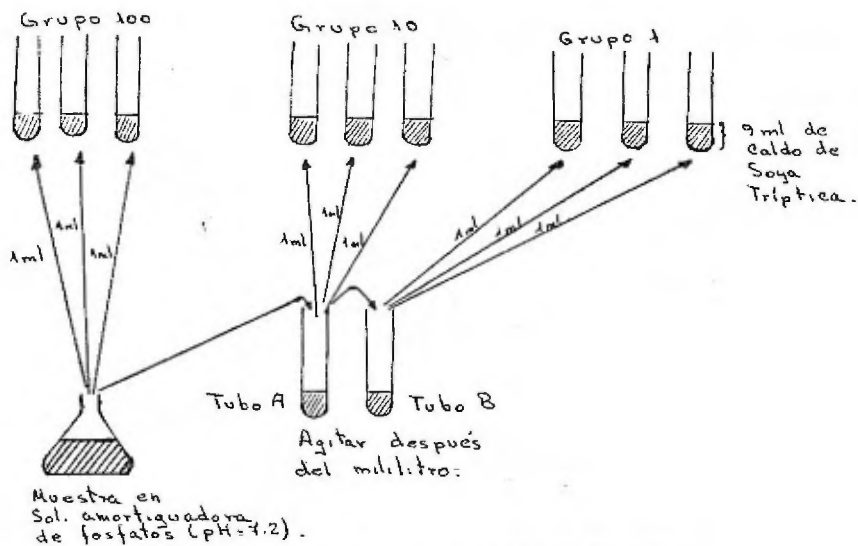


Fig. 1: METODO DEL TUBO MULTIPLE UTILIZADO EN LOS ANALISIS EFECTUADOS.

TABLA IV

Combinaciones observadas del número de tubos mostrando crecimiento en cada conjunto			Número más probable de microorganismos por gr ó ml
Número de mg ó ml de muestra por tubo.			
Grupo 100 (0.1 ml)	Grupo 10 (0.01 ml)	Grupo 1 (0.001 ml)	
3	3	3	1 100
3	3	2	1 100
3	3	1	460
3	3	0	240
3	2	3	290
3	2	2	210
3	2	1	150
3	2	0	93
3	1	3	160
3	1	2	120
3	1	1	75
3	1	0	43
3	0	3	95
3	0	2	64
3	0	1	39
3	0	0	23

## DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE ESPECIES PATOGENAS.-

PRUEBA PARA COLIFORMES (E. Coli y Salmonella).- (16)

PRUEBA PRESUNTIVA.- Un ml de la muestra se sembró en 10 ml de caldo lactosado con prueba para la formación de gas, como lo indica la figura 2 a), (13), incubándolo a 30-35°C por un período de 48 a 72 h.



Fig. 2.- a) Nos muestra la prueba presuntiva con caldo lactosado.  
b) En ella observamos la prueba anterior con resultados positivos, indicando fermentación de lactosa.

Quando la prueba fue positiva, el tubo pequeño mostró en la parte superior una burbuja de aire, indicando fermentación de lactosa. Esta prueba se muestra en la figura 2 b).

Según estos resultados se llegó a una diferencia preliminar, enunciada en la tabla siguiente (13):

TABLA V

RAPIDEZ DE FERMENTACION DE LACTOSA CON RESPECTO A DISTINTOS MICRO ORGANISMOS EN LA PRUEBA PRESUNTIVA PARA LA DETERMINACION DE COLIFORMES

Lactosa fermentada rápidamente	Lactosa fermentada lentamente	Lactosa no fermentada
<u>E. coli</u> A. aerogenes K. pneumonias	Bacilos paracolon	Especies de Shigella Salmonella Proteus Pseudomonas



Con la prueba positiva de caldo lactosado, se procedió a la siembra en medios selectivos y diferenciales para coliformes, ob-  
teniendo así una diferenciación real: Se sembró 1 ml del medio-  
de lactosa fermentada en Endo Agar y Agar de McConkey y con el-  
crecimiento que presentaron se procedió a una tinción de Gram y-  
reacciones bioquímicas de fermentación (exclusivamente con aque-  
llas colonias que presentaron características para coliformes).

Características morfológicas de las principales especies de  
coliformes buscadas en los medios de Endo Agar y Agar de McConkey  
(16), (18):

E. coli.- En el medio de Agar de McConkey se presentan como  
colonias de color rojo ladrillo, las cuales pueden estar rodea-  
das de una zona de precipitado biliar. En el medio de Endo Agar  
las colonias son de color rojo con brillo metálico, móviles, pla-  
nas y no viscosas. El resultado de su tinción es bacilo Gram ne-  
gativo.

Aerobacter aerogenes.- Son colonias rojas sin brillo metáli-  
co, ocasionalmente móviles con crecimiento más viscoso. Tinción:  
bacilos gram negativos.

Klebsiella pneumoniae.- Crecimiento mucoso, muy viscoso e-  
inmóvil, colonias rojas en los dos medios. Tinción: bacilos Gram  
negativos.

Las reacciones bioquímicas de fermentación correspondientes-  
a estos microorganismos se presentan en la siguiente Tabla (13),-  
(18):

TABLA VI

REACCIONES DE FERMENTACION DE LOS MICROORGANISMOS EN CUESTION

	Medio de Triple Azúcar con fierro		Kligler		Gas	Movilidad	Glucosa	Urea	Lactosa	Sacarosa
	Fondo	Inclinación	Fondo	Inclinación						
<u>E. Coli</u>	AG	A	+	+	+	+	AG+	-	AG+	+
<u>A. aerogenes</u>	AG	A	+	+	+	±	AG+	±	AG+	AG
Bacterias paracolon	AG	A+	+	+	±	±	AG	-	t±	-
<u>K. pneumo- blae</u>	AG	+	+	+	+	-	AG	±	±	±

(±) Variable

(+) Positiva

(-) Negativa

(A) Acido  
(amarillo)

(AG) Acido y gas

(Alc) Alcalinización

(t) Tardío

PRUEBA PARA SALMONELLA.- Aún con resultados negativos en la prueba del caldo lactosado, pero con manifestaciones de crecimiento, se procedió a la identificación de especies de Salmonella, ya que estos microorganismos no son fermentadores de lactosa, pero pueden crecer en ella. Para su identificación se -- utilizaron medios de enriquecimiento (Tetracionato) y selectivos (Verde Brillante y SS Agar), sabiendo que las características morfológicas de las colonias en los medios selectivos (19) son: En el medio de verde brillante las colonias son pequeñas, transparentes, incoloras o color rosa o bien color blanco opaco, frecuentemente rodeada de una zona color rosa o color rojo; En el medio SS Agar las colonias son opacas, transparentes o incoloras, translúcidas y generalmente es plana ; resultando en los dos medios una tinción de bacilo gram negativo.

La técnica que se utilizó fué la siguiente: Se sembró un ml. del medio de caldo lactoso en caldo de Tetracionato (para el enriquecimiento de Salmonella), incubándose a 30-35°C de 12 a 24 h. se sembró un ml. de este medio en Agar de verde brillante y en SS Agar, y se incubó a 30-35°C por 18 a 24 h. (16).

En vista de que no hubo crecimiento microbiológico en ninguno de los dos medios, no se prosiguió con la técnica.

Nota.- También se efectuó, en algunas muestras, una siembra en el medio de verde brillante sin haber hecho un enriquecimiento preliminar en el medio de Tetracionato, o sea, se sembró directamente 1 ml. de caldo lactoso en Agar de verde brillante y se incubó a 35-37°C por 18 a 24 h; obteniéndose en la mayoría de las siembras crecimiento de especies saprofitas (difteroides)

identificación al microscopio exclusivamente.

PRUEBA PARA PSEUDOMONAS.- Para la identificación de estos microorganismos el medio que se utilizó fué Agar de Setrimida, en el cual las características de las colonias son: Redondas, lisas, color verde fluorescente y de color aromático dulzón, difundiéndose de ellas un pigmento verdiazul hacia el medio (20).

Técnica: A la muestra de 50 ml con solución amortiguadora, se le adicionaron 50 ml de caldo de Soya Tríplica y se incubó de 30 a 35°C por 24 a 48 h. Del crecimiento obtenido y con ayuda de una asa de platino se transfirió una porción al medio de Agar Setrimida, en el cual todos los resultados fueron negativos y no se continuó con la técnica (16).

PRUEBA PARA ESTAFILOCOCOS.- Para su identificación se utilizó el Medio Selectivo para Estafilococos No. 110, que tiene la particularidad de identificar a las especies de estafilococos, tanto patógenas como no patógenas, en el primer caso crecen colonias de color naranja, pequeñas, redondas y convexas; en el segundo caso las colonias son incoloras o blancas con las demás características iguales que las otras.

La técnica a seguir fué la siguiente: Del mismo crecimiento obtenido en el caldo de Soya Tríplica para la prueba de Pseudomonas, se sembró con un asa de platino en el Medio de 110. El resultado fué positivo en algunos casos para las especies no patógenas; y negativo en todos los casos para especies patógenas. El crecimiento obtenido en este medio se identificó con tinción de Gram, dando por resultado cocos gram positivos (16).

También se utilizó el Medio de 110 para una confirmación de estafilococos hallados en el medio de Endo Agar y caldo de Soya Tríplica, identificados al microscopio con tinción de Gram. Los

resultados en el medio de 110 fueron positivos para especies no - patógenas, efectuándoseles también tición de gra cuyo resultado - fué cocos gram positivos.

#### \* DETERMINACION MICROBIOLOGICA DE HONGOS Y LEVADURAS.-

De la solución o suspensión final obtenida suspendiendo 5 gr de la muestra en 50 ml de solución amortiguadora de fosfatos, se tomo 1 ml y se colocó en dos cajas petri estériles, a cada caja se le adicionó Medio de Saboraud Dextrosa estéril (mantenido a -- 45°C), se dejó solidificar y se incubó a 30-35°C durante dos semanas. Después de la incubación se contó el número de colonias y se expresó el promedio de las dos cajas en términos de microorganismos/0.1 g. o ml, que multiplicado por 10 corresponde al número de microorganismos por gramo o por mililitro (22).

## RESULTADOS Y DISCUSION.-

Para cada una de las muestras se consideraron los límites marcados por el Comité de Laboratorios y Servicios Oficiales - del Control de los Medicamentos y de la Sección de Farmacéuticos de la Industria de la FIP (1), tanto para bacterias como para hongos y levaduras. Estos son:

Microorganismos viables: 103 por gramo o por mililitro.

Ausencia de Enterobacterias en un gramo o un mililitro de la muestra.

Ausencia de Pseudomona aeruginosa en un gramo o un mililitro de la muestra.

Ausencia de Staphiloccocus aureus en un gramo o un mililitro de la muestra.

Hongos y levaduras: 102 por gramo o por mililitro.

En las tablas siguientes se muestran los resultados de cada producto en los medios en que se efectuó el análisis microbiológico, las tinciones que se aplicaron y los resultados de las reacciones bioquímicas que se obtuvieron. Estas últimas se hicieron en aquellos casos donde las características morfológicas de las colonias y las tinciones de Gram correspondieron a los microorganismos patógenos buscados. Las tablas se dividieron en tres grupos que son: Materia Prima, tabla VII; Productos en proceso de fabricación, tabla VIII; y Productos Terminados, de la tabla IX a la tabla XIV.

La clave para cada uno de los medios es:

STA.- Soya Tríptica Agar.

STC.- Caldo de Soya Tríptica.

SAB.- Sabouraud-Dextrosa Agar.

CL.- Caldo Lactosado.

EA.- Endo Agar.

Mc.- Agar de Mckonkey.

VB.- Verde Brillante (siembra directa sin medio de enriquecimiento).

T VB y SS.- Siembra en Tetracionato (medio de enriquecimiento) con resiembra en Verde Brillante y SS agar.

M-110.- Medio selectivo No. 110 para estafilococos.

El medio de agar setrimida no se menciona en la lista anterior, debido a que no aparece en las tablas porque en todas las pruebas los resultados fueron negativos.

ENCUENO VII

MATERIA PRIMA

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/g).	Resultado de las Props. tinteriales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Almidón de maíz Muestra No.1	STA STC CL EA y Mc T-→VB y SS M-110 SAB STC	50 93 (-) (-) (-) (-) 20	No se llevaron a cabo por no encontrarse los microorganismos buscados.	No se efectuaron, debida a no encontrarse los microorganismos específicos.	Dentro de los límites.
Almidón de maíz Muestra No.2	CL EA y Mc T-→VB y SS M-110 SAB STC	(+) con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli</u> (-) (-) 10	bacilos gram (-)	<u>Aerobacter aerogenes.</u>	Contaminación No.1 Fuera del límite en Bacterias patógenas (Grupo de Coliformas)
Talco	CL EA y Mc T-→VB y SS VB M-110 SAB STC	1 100 (+) con crecimiento (-) para <u>E. coli.</u> (-) con crecimiento (-) 15	bacilos gram (-) difteroides	<u>E. coli.</u>	Contaminación No.1 Fuera de los límites en Bacterias aeróbicas totales y en Bacterias patógenas (Enterobacterias).
Aníjil	CL EA y Mc T-→VB y SS M-110 SAB STC	(-) con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> (-) (+) 20	difteroides bacilos gram (+) Estafilococos (+)	No se llevó a cabo Estafilococos (+)	Contaminación No.3 Fuera del límite en Bacterias patógenas (estafilocos).
Acacia	CL EA y Mc VB M-110 SAB	1 100 (+) lento, con crecimiento con crecimiento (-) para <u>E. coli.</u> (-) con crecimiento (-) 60	difteroides bacilos gram (-) bacilos gram (-) difteroides	Bacterias para-colon.	Contaminación No.4 Fuera de los límites en Bacterias aeróbicas totales y en patógenas (Enterobacterias)



(Cont...)

MATERIA

PRIMA

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorg./c)	Resultado de las propiedades tintoriales en los microorganismos buscados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas.	Observaciones
Estearato de magnesio	STC CL EA y Mc	64 (-) con crecimiento con crecimiento, (-) para coliformes	bacilos gram (+) y bacilos gram (-) difteroides, bacilos gram (+) y bacilos gram (-)	No se identificaron	Contaminación No.5 Fuera del límite para microorganismos patógenos gram negativos.
	T→VB y SS VB M-110 SAB	(-) (-) con crecimiento	difteroides		
Lactosa	STA CL SAB	20 (-) (-) (-)	No se llevaron a cabo por no encontrarse los microorganismos buscados.	No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos para estas reacciones.	Dentro de los límites
Lactosa	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Manitol	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Propilenglicol	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Poliivinilpirrolidona	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Cápsulas vacías	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites

TABLA VIII

PRODUCTOS EN PROCESO

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/E).	Resultado de las Props. tintoriales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas.	Observaciones	
Tabletas en cuyo granulado no se utilizó agua	STA EA y Mc M-110 SAB	Crecimiento muy numeroso (-) con crecimiento con crecimiento, (-) para <i>E. coli</i> .	difteroides  difteroides		Contaminación No. 6. Fuera del límite en Bacterias aeróbicas totales	
Tabletas en cuyo granulado se utilizó alcohol	STC CL EA y Mc T → VB y SS M-110 SAB	(-) 20 43 (-) (-) (-) (-) 5		No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos para estas reacciones.	Dentro de los límites.	
Núcleos de gageos	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.	
Tabletas en granel	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.	
Granulado para tabletas	STC EA y Mc T → VB y SS M-110 SAB	240 (-) (-) (-) (-)			Dentro de los límites.	
Polvo para cápsulas	STC CL SAB	(-) (-) 5			Dentro de los límites.	
Cápsulas llenas, en granel	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.	
			No se llevaron a cabo por no encontrarse los microorganismos buscados.			

(cont.)

PROYECTO 121 P-00100

Punto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio, (microorganismos/g)	Resultado de las Props. tintoriales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Bacterias en general en el estado intermedio y la vida de ella).	STC CL EA y Mc T→VB y SS VB M-110 SAB	1 100 (-) con crecimiento con crecimiento, (-) para E. coli (-) (-) con crecimiento (-) Muy numerosos (levaduras).	difteroides  difteroides	No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos.	Contaminación No. fuera de los límites para Bacterias aeróbicas totales levaduras.
Bacterias en panel 100	STC CL EA y Mc T→VN y SS VN M-110 SAB	(-) (-) poco crecimiento (-) (-) (-) con crecimiento (-) 30	difteroides	No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos.	Dentro de los límites

TABLA IX

TABLETAS DE TRAFICO

Producto	Volio de cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/g)	Resultado de las Props. tintoriales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación vitamínica (vitaminas B, C, E)	SIC (2 pruebas)	1 100 y 460			Contaminación No.8 y No. 9. la prueba: Fuera del límite en Bacterias totales y patógenas. 2a) Fuera del límite en patógenas y hongos y levaduras.
	CL ( " " )	(+) (+)	Bacilos gram (-)	Klebsiella	
	EA y No ( " " )	los dos con crecimiento, (-) para E. coli			
	T->VB y SS ( " " )	(-) (-)			
	M-110 ( " " )	(-) (-)			
SAB ( " " )	70 105				
Formulación de un laxante suave	SIC (2 pruebas)	210 460			Dentro de los límites
	CL ( " " )	(-) con crecimiento en las dos	diferoides		
	EA y No ( " " )	(-) en las dos			
	T->VB y SS ( " " )	(-) en las dos			
	M-110 ( " " )	(-) en las dos			
SAB	55				
Formulación de una medicina tiroidea	SIC	223			Contaminación No.10 Fuera del límite en Estafilococos
	CL	(-)	Estafilococos gram positivos		
	EA y No	(-)			
	T->VB y SS	(-)			
	M-110	(+)			
SAB	5				
Formulación de un sedante hipnótico.	SIC	(-)			Dentro de los límites
	CL	(-)	No se llevaron a cabo.	No se efectuaron por las razones antes mencionadas.	
	SAB	(-)			
Medicación tiroidea	SIC	(-)			
	CL	(-)			
Formulación analgésica	SAB	(-)			Dentro de los límites
	SIC	(-)			
Formulación anti-emélica.	CL	(-)			Dentro de los límites
	SAB	(-)			
	SIC	(-)			

(\*) No se mencionan los nombres de los productos por razones obvias.

(Cont.)

## TABLITAS EN BILIZO

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/g)	Resultado de las Pruebs. Tintoriales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación para Injertos y vialito	STC	<23	No se llevaron a cabo	No se efectuaron	Dentro de los límites
	CL	(-)			
	SAB	(-)			
Formulación: Bolo fólido	STC	(-)			
	CL	(-)			
	SAB	(-)			
Formulación: ción de antibiótico	STC	(-)			
	CL	(-)			
	SAB	(-)			
Formulación vitamínica Vitamina C	STC (2 pruebas)	(-) 2 pruebas			
	CL	(-)			
	SAB	(-)			

TABLAS N.º 111

Producto.	Medio de Cultivo.	Resultados en el medio (microorganismos/g).	Resultado de las Props. tintoriales en los microorganismos buscados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas.	Observaciones
Formulación: Yodohidroxiquinolona. Muestra No. 1	STC STA CL SAB	(-) (-) (-) (-)	No se llevaron a cabo por no encontrarse los microorganismos buscados.	No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos para estas reacciones.	Dentro de los límites
Formulación: Yodohidroxiquinolona. Muestra No. 2	STC STA CL SAB	(-) (-) (-) (-)			Dentro de los límites
Formulación: Ac. Acetil salicílico. Muestra No. 1	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Formulación: Ac. Acetil salicílico. Muestra no. 2	STC STA CL SAB	(-) (-) (-) (-)			Dentro de los límites
Formulación antipirina	STC STA CL SAB	(-) (-) (-) (-)			Dentro de los límites
Formulación: Ac. Acetil salicílico. Muestra No. 3	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Formulación antiinflamatoria. Piperaidina.	STC CL SAB	(-) (-) muy numerosos (levaduras).			Contaminación No. 11. Fuera del límite para levaduras
Formulación Paracetamol.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites

TABLA XI

OPORTUNIDAD DEL MANEJO

Producto.	Medio de Cultivo.	Resultados en el medio (microorganismos/g).	Resultado de las Props. tintoriales en los microorganismos buscados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas.	Observaciones
Formulación de Extractos y vitaminas	STC CL EA y Mc	240 (+) con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli</u>	bacilos gram (-) y en EA estafilococos (+)	<u>Klebsiella</u>	Contaminación No. 12. Fuera del límite para Bacterias patógenas (Enterobacterias y estafilococos)
	T-VR y SS M-110	(-) (+)	Estafilococos gram (+)		
	SAB	90			
Formulación de Poltenazmas digestivos	STC CL EA y Mc	1 100 (+)lento con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli</u>	bacilos (-) y (cocos (+)) bacilos (-) bacilos (-)	<u>Aerobacter</u>	Contaminación No.13 Fuera de los límites para Bacterias aeróbicas totales Bacterias patógenas (Enterobacterias estafilococos) y hongos
	T-VR y SS M-110 SAB	(-) (+) muy numerosos	Estafilococos (+)		
	STC	1 100			
Formulación de Hidrolizado de hígado y vitaminas	CL EA y Mc	(-)con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli</u>	diferoides y Estafilococos (+) diferoides y en EA Estafilococos (+)	No se efectuaron	Contaminación No. 14. Fuera de los límites en Bacterias aeróbicas totales y Bacterias patógenas (estafilococos).
	T-VR y SS M-110 SAB	(-) (+) 20	Estafilococos (+)		
	STC	240			
Formulación antibalantula	CL (2 veces) EA y Mc (" " ) M-110 SAB	(+) y (-) sin crecimiento (-) 10	diferoides	_____	Dentro de los límites
	STC	158	diferoides		
	CL EA y Mc T-VR y SS M-110 SAB	(-) (-) (-) (-) 5			

(Cont...)

## GRUPO DE MARI

Producto	Medio de cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/R).	Resultados de las Prue. Históricas en los microorganismos cultivados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación antifúngica	STC CL SA y Me  T → SA y SS N-110 SAN	150 (-) con crecimiento con crecimiento (-) para <i>S. coli</i> , sólo en SA. En Me no hubo crecimiento. (-) (-) (-)	Ascaris de las Prue. Históricas en los microorganismos cultivados. Bacilos gram (+)		Dentro de los límites
Formulación antibiostática	STC CL SA y Me  T → SA y SS N-110 SAN	210 (-) con crecimiento SA. con crecimiento (-) para <i>S. coli</i> . Me. - sin crecimiento (-) (-) con crecimiento muy numeroso	Bacilos gram (+) y difteroides.  difteroides		Contaminación No. 15 Fuera del límite en Hongos y levaduras
Formulación: PGI para deficiencias del equilibrio eléctrico.	STC SA SA CL SA y Me T → SA y SS N-110 SAN	(-) 170 180 180 (-) (-) (-) (-) 180	difteroides difteroides difteroides		Dentro de los límites
Formulación extractos digestivos	STC CL SAN	(-) (-) (-)	No se llevaron a cabo		Dentro de los límites
Formulación antifúngica	STC CL SAN	(-) (-) (-)			Dentro de los límites
Formulación vitamínica	STC CL SAN	(-) (-) (-)			Dentro de los límites

No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos a éstas reacciones.



TABLA III

GRUPO A EN TUBA

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/g)	Resultado de las propiedades tinte-riales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas.	Observaciones
Formulación estrogénica.	STC CL SAR	(-) (-) 5	No se llevó a cabo.	No se efectuaron.	Dentro de los límites
Formulación de sulfonamipolisacáridos.	STC EA y Mc T-5VB y SS VB M-110 SAR	460 (+) (-) para <u>E. coli.</u> (-) (-) con crecimiento (-) 25	bacilos gram (-) bacilos gram (+)	<u>E. coli.</u>	Contaminación No. 16 Fuera del límite en Bacterias patógenas (Enterobacterias).
Formulación anticonvulsiva (Difenil Hidantoinato de sodio).	STC STA CL EA y Mc T-5VB y SS M-110 SAR	93 con crecimiento inconstante. (-) con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> (-) (-) 90	bacilos gram (-) y difteroides bacilos gram (-)	<u>Alcaliferos faecalis.</u>	Contaminación No. 17. Fuera del límite para Bacterias patógenas (Enterobacterias).
Formulación antirreumática Prednisona.	STC CL EA y Mc T-5VB y SS VB M-110 SAR	1 100 (-) con crecimiento EA.- con crecimiento (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- sin crecimiento (-) (-) con crecimiento (-) (-)	difteroides bacilos gram (+) difteroides	—	Contaminación No. 18. Fuera del límite en Bacterias aeróbicas totales.
Formulación vitamínica.	STC CL EA y Mc T-5VB y SS M-110 SAR	1 100 (-) con crecimiento EA.- con crecimiento (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- (-) (-) (-) (-)	difteroides difteroides difteroides y bacilos (+)	—	Contaminación No. 19. Fuera del límite en Bacterias aeróbicas totales.

(Cont.)

GRABAS DE TIRA

Producto.	Medio de Cultivo,	Resultados en el medio (microorganismos/g).	Resultado de las Props. tintoriales en los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación ocltóica.	STC CL SAB	(-) (-) (-)	No se llevaron a cabo por no encontrarse los microorganismos buscados.	No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos para estas reacciones.	Dentro de los límites.
Formulación: Aropina, Hiosciamina y Propipololol.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación para la parolitolis, compuesto natural.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación vitamínica.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación vitamínica.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.

TABLA VIII

Formulación	Medio de cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/c)	Resultado de las Props. tintoriales de los microorganismos buscados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación vitamínica muestra No.1.	STC CL EA y Mc  T-VR y SS M-110  SAB	400 (-) con crecimiento EA.- con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- sin crecimiento. (-) (+)	estafilococos gram (+).  estafilococos gram (+)		Contaminación No. 20. Fuera del límite en Factorias patógenas (estafilococos).
Formulación vitamínica muestra No.2.	STC CL EA y Mc  T-VR y SS M-110 SAB	<23 (-) con crecimiento EA.- con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- (-) (-) (-) 5	difteroides		Dentro de los límites
Formulación vitamínica muestra No.3.	STC CL EA y Mc  T-VR y SS M-110 SAB	150 (-) con crecimiento EA.- con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- (-) (-) (-) 5	difteroides y bacilos gram (+)  difteroides		Dentro de los límites
Formulación vitamínica muestra No.4.	STC CL EA y Mc T-VR y SS VR M-110 SAB	43 (-) con crecimiento (-) (-) (-) con crecimiento (-) (-) (-)	difteroides		Dentro de los límites.
Formulación antibiótica, muestra No.5.	STC CL EA y Mc  T-VR y SS M-110 SAB	93 (-) EA.- con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- (-) (-) (-) (-)	difteroides y bacilos gram (+)		Dentro de los límites.

No se efectuaron debido a que no se encontraron los microorganismos específicos para estas reacciones.

(Cont.)

CARRILLO, T. V. 1960

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/c).	Resultado de las props. bacteriales de los microorganismos buscados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas.	Observaciones
Formulación vitamínica: muestra No. 5.	STC	1 100	Estafilococos gram (+) y difteroides.	No se efectuaron porque no se encontraron los microorganismos específicos	Contaminación No. 21. Fuera de los límites en Bacterias aeróbicas totales y Bacterias patógenas (estafilococos).
	CL EA y MC	(-) con crecimiento EA.- con crecimiento (-) para E. coli. MC.- (-)	difteroides		
	T-6VP y SS M-110	(-) (+)	Estafilococos gram (+)		
Formulación antihistamínica: muestra No. 6.	SAB	(-)	No se llevaron a cabo.		Dentro de los límites.
	STC	(-)			
	CL SAB	(-) (-)			
Formulación vitamínica: muestra No. 6.	STC	(-)	No se llevaron a cabo.		Dentro de los límites.
	CL	(-)			
	SAB	(-)			
Formulación antibiótica.	STC	(-)	No se llevaron a cabo.		Dentro de los límites.
	CL	(-)			
	SAB	(-)			
Formulación antibiótica.	STC	(-)	No se llevaron a cabo.		Dentro de los límites.
	CL	(-)			
	SAB	(-)			

## CIENTÍFICO

Producto	Medio de Cultivo	Resultados en el medio (microorganismos/g).	Resultado de las Props. tintoriales de los microorganismos buscados.	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación antibiótica bacteriana no esterilizada: Insotamicina.	STC CL EA y Mc  T-VB y SS VB M-110 SAB	1 100 (+) con crecimiento con crecimiento, (-) para <u>E. coli.</u> (-) (-) con crecimiento (-) 110	bacilos gram (-) difteroides	<u>Alcaligenes faecalis.</u>	Contaminación No. 22. Fuera de los límites en Bacterias aeróbicas totales bacterias patógenas y Hongos.
Formulación vitamínica: Vitamina D <sub>2</sub> .	STC CL EA y Mc  T-VB y SS M-110 SAB	240 (-) con crecimiento EA.- con crecimiento (-) para <u>E. coli.</u> Mc.- (-) (-) (-) (-)	difteroides		Dentro de los límites.
Formulación vitamínica: Vitamina B <sub>12</sub> .	STC CL EA y Mc  T-VB y SS M-110 SAB	23 (-) con crecimiento (-) (-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación antibiótica: Colistina.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación antifúngica: Nistatina.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación antiséptica: Clorexidina.	STC CL SAB	(-) (-) (-)			Dentro de los límites.

No se llevaron a cabo por no encontrarse los microorganismos buscados.

No se efectuaron por la razón antes mencionada.

(Cont.)

## CAPSULAS EN TIRA

Producto	Medio de Cultivo.	Resultados en el medio (microorganismos/g).	Resultado de las Props. tintoriales de los microorganismos buscados	Resultado de las Reacciones Bioquímicas	Observaciones
Formulación analéptica y antimélica.	STC CL EA y Mc T → VB y SS M-110	23 (-) con crecimiento (-) (-) (-)	No se llevaron a cabo.	No se efectuaron	Dentro de los límites.
Formulación antirreumática y relajante muscular	SAB STC CL SAB	(-) (-) (-) (-)			Dentro de los límites.
Formulación expectorante de las vías respiratorias.	STC CL SAB	<23 (-) (-)			Dentro de los límites.

En la mayoría de los casos hubo bastante crecimiento de bacterias no patógenas, identificándose algunas al microscopio como difteroides (no se confirmó este resultado).

Se puede observar que de las 80 muestras (materia prima, producto en proceso y producto terminado) el resultado para Pseudomona aeruginosa y Salmonella fué negativo en todos los casos. Para especies de estafilococs (no patógenas) se presentaron 7 muestras con resultados positivos, bacterias coliformes se identificaron en 9 de las muestras, siendo dos de ellas pertenecientes a E. coli.

Once de las muestras se encontraron fuera de los límites en microorganismos aeróbicos totales y 6 fuera de los límites para hongos y levaduras.

El total de muestras contaminadas fue de 22, de un total de 80 o sea el 27.7%, como lo muestra la siguiente Tabla:

TABLA XV

NUMERO DE MUESTRAS CONTAMINADAS, TOMANDO EN CUENTA LOS TRES TIPOS DE CONTAMINACION.

tipos de contaminación

número de muestras	de microorganismos aeróbicos totales	de microorganismos patógenos	de hongos y levaduras
2			+
8		+	
3	+		
2	+	+	+
1		+	+
5	+	+	
1	+		+

Los microorganismos que se presentaron en las diferentes contaminaciones de la No. 1 a la No. 22 se agruparon en tres tipos: - Microorganismos aeróbicos totales, Microorganismos patógenos y -- Hongos y levaduras, presentándose éstos en los tres tipos, en dos o bien en uno sólo en los diversos productos según el caso. Por ejemplo, la contaminación No. 13 presentó los tres tipos de microorganismos (aeróbicos totales, patógenos y hongos y levaduras), - la contaminación No. 2 presentó dos tipos de microorganismos (aeróbicos totales y patógenos), la contaminación No. 1 presentó solamente un tipo de microorganismos (patógenos).

Las contaminaciones presentadas en cada caso se muestran en la tabla siguiente:

TABLA XVI

## TIPOS DE MICROORGANISMOS EN LAS CONTAMINACIONES No. 1 A No. 22

Contaminación No.	Microorganismos Aeróbicos totales	Microorganismos Patógenos	Hongos y Leva duras.
1		+	
2	+	+	
3		+	
4	+	+	
5		+	
6	+		
7	+		
8	+	+	
9		+	
10		+	
11			+
12		+	
13	+	+	+
14	+	+	
15			+
16		+	
17		+	
18	+		
19	+		
20		+	
21	+	+	
22	+	+	+



También se pudo observar que en algunos productos en proceso en los que se usó materia prima contaminada, la contaminación apareció en dichos productos, v.g. tabletas a granel, en los que se utilizó acacia. Se tiene que tomar en cuenta que la materia prima que se utilizó permaneció almacenada un tiempo, durante el cual pudo haberse contaminado, o bien, la contaminación pudo haberla adquirido antes de ser almacenada.

Con respecto al empaque final del producto y su contaminación se observa que los resultados son variables, ya que mientras las tabletas y grageas empacadas en frasco tuvieron en total un grado mayor de contaminación, no sucedió lo mismo con las cápsulas, que presentaron el mismo grado de contaminación tanto las empacadas en tira como las empacadas en frasco. En general, la forma farmacéutica que resultó más contaminada fué la gragea. Esto probablemente se deba, aparte de los factores ya mencionados, al gran contenido de azúcar que forma parte de la formulación de las grageas.

La relación entre la contaminación presente y el empaque final del producto se puede observar en la siguiente tabla:

TABLA XVII

producto	No. de muestras	Tipo de empaque	Número de muestras contaminadas		Total de muestras contaminadas.
			Microorganismos Patógenos y no Patógenos	Hongos y levaduras	
Tabletas	8	En tira o blister	0 (0%) *	1 (12.5%)	1 (12.5%)
	11	En frasco	2 (18.18%)	1 (9.09%)	3 (27.27%)
Grageas	10	En tira ó blister	4 (40.0%)	0 (0%)	4 (40.0%)
	11	En frasco.	3 (27.2%)	2 (18.1%)	5 (45.3%)
Cápsulas	9	En tira o blister.	1 (11.1%)	1 (11.1%)	2 (22.2%)
	10	En frasco	2 (20.0%)	0 (0%)	2 (20.0%)

\* Los números entre paréntesis corresponden al % con respecto al número de muestras tomadas en cada caso.

La contaminación en la materia prima que se presentó en cinco de los productos (almidón de maíz, talco, acacia, amijel y es tearato de magnesio) fué casi siempre por microorganismos patógenos, habiendo sólo un caso de contaminación de microorganismos aeróbicos totales; ésto indica que la contaminación en la materia prima analizada es peligrosa.

En los productos en proceso, sólo hubo dos casos que tuvieron contaminación: tabletas cuyo granulado se hizo con agua y tabletas en las que intervinieron para su granulado la acacia y el almidón de maíz. En los dos productos la contaminación fué de microorganismos aeróbicos totales.

Con respecto a los productos terminados se observó lo siguiente:

Tabletas empacadas en frasco.- Se presentó contaminación en un producto vitamínico y en la formulación correspondiente a la de hormona tiroidea sintética, teniendo entre las dos, los tres tipos de microorganismos (aeróbicos, patógenos y hongos y levaduras). Esta contaminación puede considerarse de gran trascendencia, debido a los riesgos que puede ocasionar al ser administrado el medicamento.

Tabletas empacadas en tira.- La contaminación que se observó en estos productos fué sólo en una formulación antiparasitaria, en donde se encontró un número de levaduras que rebasó los límites establecidos.

Grageas empacadas en frasco.- En este caso hubo cuatro productos que presentaron contaminación, en tres de ellos (extractos y vitaminas, polienzimas digestivas e hidrolizado de hígado) se encontraron microorganismos patógenos, estando el producto de polienzimas digestivas también fuera de los límites de -- contaminación por microorganismos aeróbicos totales y por hongos y levaduras. El producto de hidrolizado de hígado también se encontró fuera del límite de contaminación por microorganismos aeróbicos totales. En el cuarto producto de formulación -- antihistamínica, se observó solamente contaminación de hongos y levaduras.

Grageas empacadas en tira.- Se encontraron cuatro productos con contaminación, dos de ellos de formulación con sulfocopolisacáridos y de formulación anticonvulsiva, tuvieron contaminación de microorganismos patógenos; los otros dos (formulación antirreumática y formulación vitamínica) tuvieron un número mayor del límite establecido para microorganismos aeróbicos-totales.

Cápsulas empacadas en frasco.- Por lo que respecta a estos productos, dos de ellos presentaron contaminación: una formulación vitamínica en la que se encontró contaminación por microorganismos patógenos. El otro, una segunda formulación vitamínica presentó al igual que la anterior contaminación de microorganismos patógenos, estando también fuera del límite en microorganismos aeróbicos totales.

Cápsulas empacadas en tira.- En estos productos se encontró solamente una formulación contaminada, la de un antiinflamatorio no esteroide, presentándose en esta contaminación los -- tres tipos de microorganismos (aeróbicos totales, patógenos y -- hongos y levaduras).

En todos los casos hubo contaminación de cualquiera de los tres tipos de microorganismos. Esto nos lleva a concluir que - el empaque final, no interviene en la contaminación que puedan presentar los productos.

En lo referente a la forma farmacéutica, la más contaminada fué la gragea, en cuya formulación intervinieron en general, productos de origen natural que pueden ser los orígenes de la - contaminación, no olvidando de tomar en cuenta que la cantidad de azúcar que contiene puede ser otro factor.

La forma farmacéutica que ocupó el segundo lugar en contaminación fué la cápsula, cuyos productos contaminados fueron de formulaciones vitamínicas y antiinflamatoria no esteroide, probablemente en este caso, en la contaminación también interviengan las sustancias de que están hechas las cápsulas, gelatina y colorante.

La forma farmacéutica que ocupó el último lugar en contaminación fué la tableta, probablemente debido a que en su mayoría se utilizaron para su fabricación productos de origen sintético, aunque no por eso dejó de tener contaminación en algunos ca sos.

En total se observó, que el 27.7% de las ochenta muestras analizadas, resultaron contaminadas de cualquiera de los tres - tipos de microorganismos buscados.

## CONCLUSIONES.-

De acuerdo con los análisis efectuados se llegó a las conclusiones siguientes:

1.- Tomando en cuenta la materia prima y el producto en proceso se observó que si la primera se utiliza con un grado de contaminación, dicha contaminación aparece en el producto terminado a granel; en cuyo proceso de fabricación no estuvieran presentes compuestos bacteriostáticos o bactericidas.

2.- En cuanto al empaque, se concluye que éste no interviene en el tipo de contaminación encontrado en las diferentes formas farmacéuticas analizadas, puesto que los resultados obtenidos son muy variables.

3.- La forma farmacéutica que resultó con mayor grado de contaminación total (sumando los dos tipos de empaque), fué la gragea; en segundo lugar la cápsula y en tercero la tableta. En estos resultados no se tomó en cuenta el contenido de cada formulación, pudiendo esperar que algún compuesto de la formulación hubiera podido inhibir el crecimiento de algún microorganismo.

4.- Tomando en consideración las características farmacológicas de los compuestos activos en las formulaciones fueron dos los productos que tuvieron una contaminación en la que intervinieron los tres tipos de microorganismos (aeróbicos totales, patógenos y hongos y levaduras). Uno de ellos fué un producto a base de polienzimas digestivas (muestra de gragea en frasco), y el otro de un antiinflamatorio no esteroide (muestra de cápsula en tira). Las otras muestras tuvieron ya sea dos tipos de microorganismos o uno solamente.

Las recomendaciones que se sugieren son:

1a).- El establecimiento de un mayor control microbiológico en cada materia prima que llega al almacén.

2a).- La implantación de normas de higiene más estrictas en los edificios destinados al almacenamiento de las materias primas, efectuándose controles microbiológicos esporádicamente, según los

resultados obtenidos.

3a).- La creación y control de normas de higiene durante el proceso de fabricación, tanto en el equipo y edificio como en el personal, y que se efectuen controles microbiológicos según se amrite, del equipo y de los departamentos destinados a la fabricación de estas formas farmacéuticas, lo cual permite observar el número y tipo de contaminación existente.

4a).- Que se ponga mayor énfasis por parte de las autoridades en el caso de diseñar un reglamento en donde se establezcan los tipos de control microbiológico a efectuar y los límites de estos -- controles, como lo han hecho ya algunos países (E.E.U.U., Francia, etc.) en lo referente a estas formas farmacéuticas no estériles.

## BIBLIOGRAFIA.-

- 1) Rapport commun du Comité des Laboratoires et Services-officiels de Contrôle des médicaments et de la Section des pharmaciens de L'Industrie - FIP. "Pureté microbologique des formes pharmaceutique non obligatoirement-stériles". Journal Mondial de Pharmacie. (1972) 2, 15, 88.
- 2) Plotkin S.A., Autrian R., "Bacteremia caused by solutions of a cationic surface active agent". American' Journal - Medical Science (1958) 235, 621.
- 3) Lang D.I., Kunz L.J. Martin, A.R. Schroder S.A., Thomson L.A., "Carmines as a source of nosocomial salmonellosis". New England Journal Medicine (1957) 276, 829.
- 4) Public Health Laboratory Service, "Microbial contamination of medicines administered to hospital patients". The Pharmaceutical Journal. (1971) 207, 96.
- 5) M. Millet, J. Dony et P. Gérard, "Problèmes posés par la présence de germes dans les médicaments non injectables". Journal de Pharmacie de Belgique (1965) 20, 467.
- 6) Westwood N., "Microbial contamination of some pharmaceutical raw materials". The Pharmaceutical Journal -- (1971) 207, 99.
- 7) Savin J.A., "The Microbiology of topical preparations - in Pharmaceutical Practice", 1. Clinical aspects" Pharmaceutical Journal (1967) 199, 285.
- 8) Bean H.S., Farrel R.C., "The persistence of Pseudomona aeruginosa in aqueous solution of phenols". Journal Pharmaceutical Pharmacology (1967) 19, 183s.
- 9) Contamination of Pharmaceutical Products". British Medical Journal (1967) 2, 125.

- 10) Noble W.C., Savin J.A., "Steroid cream contaminated with Pseudomona aeruginosa". Lancet (1966), (I), 347.
- 11) Bean H.S., "2. Pharmaceutical Aspects". The Pharmaceutical Journal (1967) 199, 289.
- 12) Beveridge E.G., "Microbial content of pharmaceutical solutions". The Pharmaceutical Journal (1971) 207, 102.
- 13) Jawetz E., L. Melnick J., Adelberg E.A., "Manual de Microbiología Médica". 2a. edición, El Manual Moderno 1964, pgs. 185-196.
- 14) Hess H., Knusel F., Mullen K., "Control of low level microbial contamination of drug preparations". Pharmaceutica Acta Helvetiae (1969) 44, 174.
- 15) Farmacopea Internacional, 2nd ed. World Health Organization Geneva, Suíza, 1967. pgs XXXIV.
- 16) United States Pharmacopeia, XVIII, 1970, pgs. 846-852.
- 17) National Formulary XII, p. 497-500
- 18) Microbiología de Zinsser, 3a. edición, UTEHA, 1970, pgs. 717-723.
- 19) Difco Manual, 9th edition, Editorial DIFCO, pgs. 144 y 134
- 20) Difco Manual, 9th edition Editorial DIFCO, pgs. 131
- 21) Difco Manual, 9th edition, Editorial DIFCO, pgs. 151
- 22) Jawetz E., L. Malnick J., Adelberg E.A., Manual de Microbiología Médica. 2a. edición, El Manual Moderno, 1964, -- pgs. 245 y 246.