

Nº 160
2EJ.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PLANTEAMIENTO DE LAS PRÁCTICAS ADECUADAS RELEVANTES
DE UN LABORATORIO DE CONTROL MICROBIOLÓGICO**

TRABAJO ESCRITO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICO FARMACÉUTICO BIÓLOGO

P R E S E N T A

ELIA MARGARITA TERAN PORCAYO



MÉXICO, D. F.

1992

FALLA DE ORIGEN



Universidad Nacional
Autónoma de México



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 está 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.

INDICE

1. - OBJETIVO.
2. - GENERALIDADES.
3. - ORGANIZACION.
4. - PERSONAL.
 - CAPACITACION
 - EVALUACION
5. - INSTALACIONES.
6. - EQUIPOS E INSTALACIONES.
7. - MEDIOS DE CULTIVO (VALIDACION).
 - TIPOS DE MEDIO DE CULTIVO
 - FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD DE LOS MEDIOS
 - PREPARACION
 - ESTERILIZACION
 - ENVASADO
 - ALMACENAMIENTO
 - CONTROL DE CALIDAD
 - CULTIVO PREPARADOS
8. - CEPAS.

9. - CONTROL AMBIENTAL.

10. - MATERIAL DE LABORATORIO

- LAVADO DE MATERIAL DE VIDRIO
- CALIBRACION
- MANEJO Y TRATAMIENTO
- ESTERILIZACION

11. - METODOS ANALITICOS USADOS EN EL LABORATORIO.

- PRUEBAS DE ESTERILIDAD
- CUENTA TOTAL MICROBIANA
- IDENTIFICACION DE ALGUNOS MICROORGANISMOS EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA
- CONSERVADORES
- POTENCIAS

12. - PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS.

- RECEPCION Y REGISTRO
- ALMACENAMIENTO PREVIO AL ANALISIS
- ORDEN DE ANALISIS
- ANALISIS
- INFORME ANALITICO
- ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS DE RETENCION

13. - SEGURIDAD.

14. - DOCUMENTACION.

15. - OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES.

16. - BIBLIOGRAFIA.

1.- OBJETIVO.

Reunir las guías y/o recomendaciones técnicas más sobresalientes, referente a los requisitos que debe cumplir el Laboratorio Microbiológico, del departamento de Control de Calidad de la Industria Farmacéutica, con respecto a instalaciones, organización, procedimientos de trabajo y documentación para poder efectuar determinaciones reproducibles y confiables.

2.- GENERALIDADES.

El Laboratorio de Control de Calidad normalmente consiste en 2 unidades uno es el Laboratorio Físico-Químico y otro el Laboratorio de Microbiología.

El Laboratorio de Microbiología, ejecuta una variedad de pruebas Microbiológicas para las materias primas, materiales, producto en proceso y terminado.

La cuenta en placa y la identificación de microorganismos patógenos, es realizada en los productos orales y tópicos.

La prueba de esterilidad es el análisis microbiológico apropiado para todos los productos parenterales y oftálmicos antes de su distribución, frecuentemente el Laboratorio de Control de Calidad puede tener funciones de investigación y desarrollo. (9)

Las especificaciones y métodos de prueba en el Laboratorio de microbiología, son generalmente dictaminados por compendios Oficiales:

Farmacopea Nacional, USP XXII, Farmacopea Británica, Norma IMSS y Farmacopeas de otros países o libros Oficiales de consulta; todas ellas establecen los procedimientos y especificaciones o tolerancias que deben reunir la muestra. (9) (14)

3.- ORGANIZACION.

La organización de un Laboratorio Microbiológico debe cubrir 2 aspectos para llevar a cabo sus funciones:

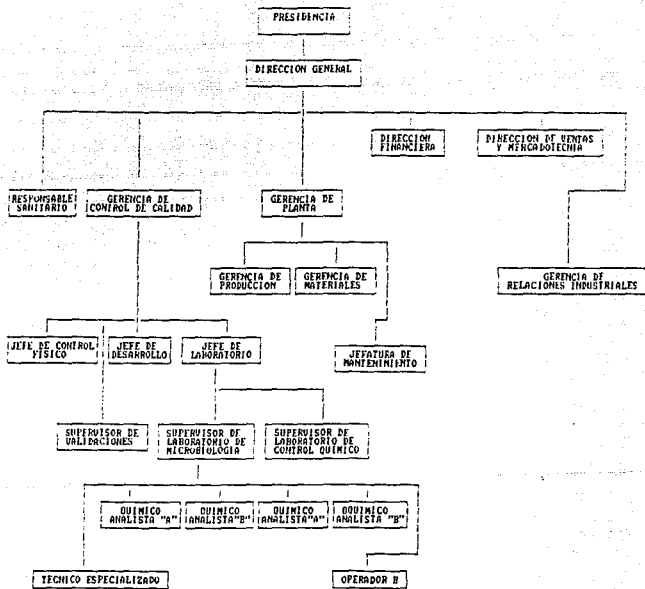
- a) Requerimientos Técnicos.
- b) Requerimientos Legales

Estos requerimientos tienen sus propios objetivos, los cuales en algunos casos convergen.

Desde el punto de vista Técnico la meta es efectuar determinaciones analíticas reproducibles y confiables, desde el punto de vista Legal se establece que el Laboratorio debe estar organizado de tal manera de que cumpla con disposiciones reglamentarias entre otras (Reglamentación Sanitaria, Laboral, Pesas y Medidas, Departamento de Bomberos, uso del suelo del Departamento del D. F., Reglamentación Ecológica y Física). (4)

Dentro de la Organización Técnica debe existir un organigrama del área que defina claramente las funciones y responsabilidades del personal; contar del número adecuado de personal capacitado para desarrollar su trabajo. (4) (8) (23)

Cada sección tendrá un responsable de su funcionamiento (De acuerdo con la magnitud del Laboratorio, una misma persona podrá ser responsable de uno o más secciones) SE ANEXA UN EJEMPLO DE UN ORGANIGRAMA QUE PUEDE ENCONTRARSE EN LA INDUSTRIA FARMACEUTICA Y DOS PERFILES DE PUESTO PARA PERSONAL QUE LABORA EN EL LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA. (4) (10) (23)



AREA : Control de Calidad

DEPARTAMENTO : Microbiología

NOMBRE JEFE INMEDIATO :

I. PERFIL DEL PUESTO:

1. **Escolaridad:** Preparatoria 100 %, Técnico del Consejo
2. **Sexo:** Indistinto
3. **Edad:** De 16 a 25 años

II. REQUISITOS:

1. *Alto sentido de responsabilidad.*
2. *Tener habilidad para interpretar manuales, así como libros oficiales (Farmacopea Nacional, USP, etc.)*

III. FUNCIONES:

1. Preparar los medios de cultivo.
2. Preparar el material estéril.
3. Realizar los controles necesarios del área (ambiental, registro de temperaturas, control de esterilización, etc).
4. Conocer los Procedimientos Operativos del área.
5. Llevar registros.

AREA : Control de Calidad

DEPARTAMENTO : Microbiología

NOMBRE JEFE INMEDIATO :

NO. PUESTO : Químico Analista "A" NOMBRE:

I. PERFIL DEL PUESTO.

1. *Escolaridad:* QFB., QFI., QBP. o similar.
2. *Sexo:* Indistinto.
3. *Edad:* De 24 a 30 años.

II. REQUISITOS.

1. *Experiencia dos años en análisis microbiológico del medio farmacéutico (esterilidad, cuenta viable, potencias).*
2. *Alto sentido de responsabilidad.*
3. *Tener habilidad para interpretar manuales, así como libros oficiales (Farmacopea Nacional, USP.)*
4. *Inglés (comprender el inglés técnico).*

III. FUNCIONES.

1. *Registrar en una libreta de análisis todos los datos correspondientes a la muestra que se le asigne.*
2. *Analizar tanto las materias primas, producto en proceso y terminado del acuerdo a especificaciones y/o fuentes oficiales proporcionados por el Jefe del Área.*

3. Seleccionar el material y los reactivos que necesita para trabajar y coordinar la buena preparación de medios de cultivo, material estéril y estado de cepas.

4. Registrar en la libreta de liberaciones el resultado de conformidad o no conformidad del producto.

4.1 Equipo o instrumento que es necesario manejar:

- a) Balanzas analíticas
- b) Potenciómetro
- c) Horno
- d) Autoclave
- e) Campana de flujo laminar

5. Efectuar los cálculos de sus análisis, interpretarlos y reportarlos en la libreta correspondiente y emitir el reporte analítico del producto analizado.

6. Comunicar al Jefe inmediato cualquier duda que surja en el desempeño de sus funciones.

7. Cumplir con las políticas y normas de la Empresa.

4. - PERSONAL.

El Laboratorio estará dirigido por un profesional en la materia, el cual tendrá el personal profesionista y técnico suficiente, con la experiencia y capacitación necesaria y adecuada para realizar las funciones que se les encomienden. (3) (4)

CAPACITACIÓN DEL PERSONAL

El personal de nuevo ingreso debe recibir suficiente inducción o información sobre las Políticas, Reglamentos y Objetivos de la Empresa de modo que realice las funciones asignadas de tal manera que provean con Certeza, Seguridad y Calidad lo que ejecutan. Esto significa que deben ser entrenados para asegurar la confiabilidad de los trabajos que se le asignen (4). El tiempo requerido para el adiestramiento va a depender de los resultados obtenidos.

Todos los empleados deben tener experiencia, recibir constantemente instrucción y adiestramiento, de tal forma que realicen sus funciones eficazmente. (10)

La importancia de contar con personal capacitado radica en la optimización de las funciones a realizar; es por eso que se considere en primer término todo lo relativo al personal que labora en el Laboratorio, ya que por completo que sean los recursos materiales jamás se obtendrán resultados confiables si no se cuenta con personal bien seleccionado, que tenga una alta capacidad técnica y un alto sentido de ética profesional. (4)

La capacitación deberá impartirse basada en programas y evidenciada en evaluaciones constantes al personal. (24)

EVALUACION DEL PERSONAL

El Laboratorio implementará un sistema de evaluación constante que permita conocer el desempeño de todo el personal, de acuerdo a las responsabilidades y funciones de cada puesto, a efecto de llevar a cabo promociones, reconocimientos o sanciones. (4)

Dentro de las Políticas de algunas Compañías, se aplican pruebas de reto al personal que realiza los análisis; las cuáles consisten en dar al analista un monitor o muestra problema, conocida su desviación y ver el grado de desviación al problema. (6)

(ANEXO EJEMPLAR DE UN FORMATO DE EVALUACION).

En el cual se puede observar que el jefe de área dió al analista un producto para su análisis.

La muestra dada corresponde a un lote contaminado y que tiene una X cantidad de colonias de determinados microorganismos.

El microbiólogo sin conocer el antecedente realiza el análisis y lo reporta.

El Jefe de área evaluará el resultado obtenido contra el esperado y calculará la desviación del analista.

Generalmente se manejan tolerancias o límites de diferencia, los cuáles servirán para calificar la calidad de trabajo del analista. La frecuencia de la aplicación de estos monitores estará dada a la experiencia, habilidad y resultados.

Generalmente un $\pm 5\%$ de desviaciones es aceptado.

NOMBRE DEL LABORATORIO

•PRUEBA DE RETO•

DEPARTAMENTO DE CONTROL DE CALIDAD

PARA: PERSONAL DE CONTROL ANALITICO

NOMBRE: _____

FUNCION: _____

ESCOLARIDAD: _____

EXPERIENCIA: _____

FECHA	MONITOR	DESCRIPCION	VALOR ESPERADO	VALOR ENCONTRADO	DESVIACION	CALIFICACION
JUN 91	1	NEOMICINA	85%	81%	4%	ACEPTABLE
DIC 91	2	GLIBENCLAMIDA. TAB.	40 Colonias (Presencia de E. coli)	59 Colonias Presencia de E. Coli	1%	ACEPTABLE
27 FEB 1992	5	DEXAMETASONA INYECTABLE	No estéril presencia de Klebsiella.	No estéril presencia de Klebsiella	0%	ACEPTABLE

ESCALA:

ACEPTABLE = A

INACEPTABLE = I

OBSERVACIONES: _____

5. - INSTALACIONES.

El área de Microbiología debe ser independiente de otras áreas. (23)

Las instalaciones comprenden las áreas de trabajo y todos los servicios auxiliares necesarios para el funcionamiento de las mismas.

Las instalaciones deben tener las siguientes características arquitectónicas. (4).

Superficie.- La superficie del área debe permitir que el personal trabaje cómodamente y que con facilidad se puedan llevar a cabo los servicios de limpieza y mantenimientos necesarios. (4)

Debe existir una separación adecuada de actividades, por ejemplo : La ubicación de los hornos y autoclaves usados para la esterilización, deben estar físicamente separados de las estufas de incubación, para que las incubadoras no se vean afectadas por el calor que emite; y se refleje en altas y bajas de temperatura.

Ventilación.- Deben evitarse corrientes de aire. (4)

Iluminación.- El Laboratorio debe tener la iluminación adecuada para el correcto desempeño del trabajo. (4)

Acabados.- Los terminados deben ser lisos sin grietas y sin interrupción de continuidad para paredes, techos y pisos, revestidos y pintados con pintura epoxica. (24)

Las uniones de techos-paredes, pisos-paredes y paredes-paredes, deben ser redondeadas, de acabado sanitario, para evitar acumulaciones de materiales o polvo. (4) (24)

Los materiales y/o recubrimientos deben de resistir la acción de sanitizantes, que se utilicen. (4)

Deben existir programas de limpieza y sanitización del área. (4) (6) (24)

EQUIPOS AUXILIARES.

Se consideran como: Las campanas de flujo laminar, hornos, autoclaves, estufas de incubación, etc.

En el área de microbiología deben tener zonas para autoclave, Hornos de esterilización (AREA DE FUEGO). La cual debe diseñarse con la seguridad que se requiere para evitar explosiones y exceso de temperatura.

En la zona delimitada para la instalación de las Autoclaves, habrá medios adecuados de extracción para evitar la acumulación del calor, si las autoclaves no generan su propio vapor podrán alimentarse con vapor de una central térmica. (4)

SERVICIOS AUXILIARES.

Energía Eléctrica.- Debe ser suficiente para el correcto funcionamiento de los equipos; así también se recomienda que se tenga zonas con regula-

cion de voltaje y su instalación debe ser oculta y debidamente definida bajo su código de color. (4)

Agua y Drenaje. - Los drenajes deben ser protegidos con cespoles que mantengan la hermeticidad entre el drenaje y los cuartos de trabajo.

Las coladeras deben ser de diseño Sanitario. (De acero inoxidable, que evite el reflujó de los desechos, para lo cuál además de tener su tapa, el diseño de la misma debe ser totalmente vertical). (4) (6)

En el laboratorio de Microbiología deben evitarse llaves dentro de los cuartos de trabajo. (Sólo las necesarias).

GA5. - Este servicio debe ser instalado sin empotrarse a las paredes e identificado con el color que le corresponde de acuerdo al código.

VACIO. - Puede ser suministrado por bombas de vacío y debe ser identificado de acuerdo al código de color que le corresponde.

AIRE ACONDICIONADO. - Por razones de confort y/o por requerimientos específicos se recomienda la instalación del aire.

LIMPIEZAS DE SERVICIO. - Se recomienda identificarlas utilizando el código de colores Internacional.

MOBILIARIO. - Las mesas, sillas y estantes deben ser fáciles de limpiar y deben permitir comodidad al emplearse. (4)

ZONAS DE LAVADO. - El Laboratorio de Microbiología debe contar con una zona de lavado, la cual debe estar separada de las zonas de trabajo; en el Área de Microbiología debe existir una zona para la esterilización del material contaminado antes de que éste pase a la recepción de material sucio.

El Área donde se lleve a cabo el lavado contará con tarja de acero inoxidable, dotada de preferencia con servicios de agua caliente y fría. Además deberá de contar con un servicio accesible de agua purificada para los enjuagues finales.

Respecto al drenaje se deberán seguir las disposiciones Oficiales vigentes en referencia al equilibrio ecológico.

El drenaje deberá estar hecho con material resistente a la acción de los reactivos y de caída recta, para evitar reflujos.

Se debe controlar el manejo de materiales como Agar, Toxinas y productos peligrosos en general, tal como se explica en el punto número 13 que habla de la seguridad en el Laboratorio.

ZONA DE SECADO. - En esta zona se procederá a secar el material lavado, ya sea por atracción o bien por estufa.

ZONA DE ESTERILIZACIÓN. - Lugar donde se encuentran los hornos y autoclaves los cuales deben estar separados de las estufas de incubación. (4)

ZONAS DE ALMACENAMIENTO

a) MATERIAL LIMPIO.

El material debe esterilizarse antes de su uso y debe ser almacenado en estantes o cuartos separados y cerca del área de operación.

b) MEDIOS DE CULTIVO Y CEPAS MICROBIANAS.

El área de Microbiología contará además con zonas específicas, para almacenamiento de medios de cultivo deshidratados y preparados, así como con cepas microbianas, en las que se tendrá especial cuidado de controlar las condiciones de temperatura y humedad (4) (16) (17)

c) ALMACENAMIENTO DE INSTRUMENTOS. - (Potenciómetro, Balanza, Contador de colonias, etc.)

Debe reunir las condiciones ambientales que lo preserven del polvo, humedad y temperaturas excesivas. (4) (7) (24)

AREAS PARA REALIZACION DE LOS ANALISIS.

Comprende de:

- Antecala. Procedimiento de vestido, diagrama a la vista.
- Presión positiva.

- *Diseño para fácil limpieza.*
- *Calidad de Microaire.*
- *Mantenimiento de filtros, procedimiento y programa.*
- *Campanas de flujo laminar (clase 100).*

AREA DE SERVICIOS ADMINISTRATIVOS

Esta área comprende lo esencial.

- *Sección de recepción y registro de muestras.*
- *Sección de entrega de resultados.*
- *Archivo general Técnico.*
- *Archivo de documentación Oficial.*

6. - EQUIPO E INSTRUMENTOS.

Se consideran como equipos todos aquellos que son necesarios para llevar a cabo los procesos analíticos, pero que no proporcionan resultados cuantitativos para los mismos; como lo son Autoclave, los hornos, las estufas, las campanas de flujo laminar, etc.

Los instrumentos son considerados todos aquellos aparatos que nos proporcionan resultados cuantitativos.

Ejemplo: Termómetros, Balanzas.

INSTALACIONES.

Los equipos e instrumentos deben ser instalados en áreas apropiadas o en toda zona que no le afecte su funcionamiento y conservación. (4)

Todos los instrumentos y equipo empleados en el laboratorio deben estar ubicados en locales específicos, exclusivos e idóneos y ser calibrados y revalidados para garantizar la fidelidad y reproducibilidad de las operaciones. (6) (24)

Las zonas de instalación apropiadas deben ser áreas en las cuales el funcionamiento y conservación de los equipos no se vea afectada.

El área donde se instalen debe contar con los servicios auxiliares necesarios y con el mobiliario adecuado para prever lo que pueda afectar su

funcionamiento, sobre todo en los equipos sensibles, los cuales deben ser controlados protegiéndolos de excesivas humedades, temperatura y vibración cuando se requiera. (4)

Los instrumentos y equipos deben contar con:

- a) Ser inspeccionados previo a su empleo y después de su uso de una manera programada y con la frecuencia necesaria en cada caso, para lo cual se contará con un registro. (6) (23)

Las frecuencia de su mantenimiento preventivo puede estar en función de:

- Si es un instrumento o equipo.
- Sensibilidad.
- Uso
- Si el equipo es nuevo o de vieja adquisición o presenta numerosas fallas.

Algunas Empresas han establecido la siguiente frecuencia de revisión.

F R E C U E N C I A

INSTRUMENTOS Y/O EQUIPO	CALIBRACION	VALIDACION	METODO
Potenciómetro	Diariamente Trimestral		Buffer de referencia pH 4,7,10 Buffer de referencia 2,4,5,7,10 y 14
Termómetros	Senestralmente		Comparación
Balanza Analítica	Mensual		Harco de pesas certificado.
Campana de Flujo Laminar	Trimestralmente (Verificación)		
Horno		Anual	Termopares
Autoclave		Anual	Termopares
Estufa de incubación		Anual	Termopares
Monitor Centrifugo	Mensual		Auto calibración (Holde)

- b) Manuales autorizados por el Jefe de Laboratorio que describe los métodos y sistemas de calibración, mantenimiento, operación y limpieza de cada equipo y/o instrumentos.

Estos manuales deberán estar disponibles al personal relacionado con esta área. (23)

c) Cada aparato debe contar con cierta información (Nombre, marca, modelo, serie, fecha de adquisición, número de inventario, nombre del fabricante o representante, compañía que proporciona el servicio y fecha del último servicio.

d) Programas de mantenimiento de los equipos con sus respectivos reportes o evidencias de que se realizaron.

Quando se trate de mantenimientos correctivos se anotarán las fallas detectadas, las medidas tomadas para corregirlas y la procedencia del servicio.

e) Records del mantenimiento que se le ha dado. (Anexo ejemplar).

f) El equipo usado debe ser el apropiado y diseñado con capacidad adecuada, acorde a capacidad funcional a protocolo.

g) El equipo y/o instrumento debe contar con dispositivo de seguridad. (4)

h) El equipo requerido debe tener especificaciones adecuadas y operacionales en el idioma usado; deben contener manuales que proporciona el fabricante de:

- Instructivo de Instalación

- Instructivo de Operación

- Instructivo de Reparaciones

- Instructivo de Mantenimiento

- Instructivo de Calibración o verificación de parámetros.

Y una lista de accesorios de repuestos sugeridos. (4)

NOMBRE : _____

AREA : MICROBIOLOGIA

EQUIPO

(X)

INSTRUMENTO

()

MARCA : _____

CLAVE : _____

MODELO : _____

RANGO : _____

SERIE : _____

REVISIONES :				
FECHA	MANTENIMIENTO	TIPO DE MANTENIMIENTO	RESULTADOS	OBSERVACIONES
13/OCT/91	CONTEO DE PARTICULA Y RECTIFICACION DE LA VELOCIDAD DE FLUJO.	PREVENTIVO	CONFORME REPORTE 19255	
30/ENE/92	CAMBIO DE FILTRO	CORRECTIVO	CONFORME REPORTE 15895	EL CAMBIO DEL FILTRO SE REALIZO DEBIDO A LA DETECCION DE TURBULENCIA A TRAVES DE LA PRUEBA DE TETRACLORURO DE TITANIO.
02/MAY/92	CONTEO DE PARTICULA Y RECTIFICACION DE LA VELOCIDAD DE FLUJO.	PREVENTIVO	CONFORME REPORTE 19548	SE CAMBIO EL PREFILTRO.

7.- VALIDACION DE MEDIOS DE CULTIVO

El cultivo de los microorganismos depende de sus requerimientos nutricionales, los cuales varían ampliamente, algunos de ellos se pueden cultivar en medios químicamente definidos o sintéticos; otros para su crecimiento óptimo pueden necesitar nutrientes más complejos tales como peptonas, extracto de carne, extracto de levadura, los cuales le proporcionan vitaminas y otras sustancias promotoras del crecimiento.

En la literatura científica abunda la información relacionada con la descripción sobre diferentes tipos de medios de cultivo que son necesarios para el crecimiento, aislamiento, identificación y enumeración de diversos tipos de microorganismos.

Los medios de cultivo son mezclas de sustancias orgánicas, y/o inorgánicas que han sido y son diseñados para permitir el crecimiento de los microorganismos. Los requerimientos nutricionales de estos reflejan su capacidad biosintética; las células pueden obtener sus nutrientes directamente del medio o sintetizándolos a partir de otros materiales.

Los medios de cultivo además de contener los nutrientes esenciales deben reunir condiciones físico-químico de: Actividad en agua (AW), pH, potencial de oxidación-reducción (Eh).

El contenido de agua es un factor determinante, en ausencia de este crecimiento microbiano no ocurre, ya que el agua interviene en diversas reacciones químicas que se llevan a cabo en el interior de la célula,

siendo además indispensables para la disolución de los diferentes componentes que penetran al interior de la célula.

La calidad del trabajo microbiológico depende en gran medida de la idoneidad de los medios de cultivo y de los reactivos que se utilizan, las mejores instalaciones y equipo disponibles, así como la destreza del analista pierden todo su valor cuando la composición de los medios de cultivo no corresponde a la requerida, o cuando durante su preparación no se respetan las indicaciones del fabricante.

En este trabajo indicaremos detalladamente como realizar el control de calidad de los diferentes tipos de medios de cultivo, comentaremos su importancia así como los factores que pueden deteriorar la calidad de los medios de cultivo y la repercusión que éste tiene en las determinaciones microbiológicas.

Dentro de las pruebas de control de calidad haremos particular énfasis en como llevar a cabo la prueba de promoción de crecimiento en los diferentes tipos de medios de cultivo indicando los puntos críticos. (22)

LA CALIDAD DE LOS ENSAYOS MICROBIOLÓGICOS DE
LOS MEDICAMENTOS ESTÁ RELACIONADA CON:

- *La participación permanente del microbiólogo.*
- *La destreza del analista.*
- *La idoneidad y calidad de los medios de cultivo.*
- *Los reactivos que se utilizan en el análisis.*

TIPOS DE MEDIOS DE CULTIVO USADOS EN EL CONTROL
MICROBIOLÓGICO DE MEDICAMENTOS (11)

1) Sólidos

2) Líquidos

3) Semisólidos

Estos pueden ser:

* Pre-enriquecimiento

* Enriquecimiento

* Simples

* Enriquecidos

* Selectivos y/o diferenciales

* Indicadores

**FACTORES QUE AFECTAN LA CALIDAD
DE LOS MEDIOS DE CULTIVO**

1. - *Pesado incorrecto:*

- # *Error humano*
- # *Balanza no ajustada*

2. - *Uso de medios deshidratados deteriorados por exposición a:*

- # *Calor*
- # *Humedad*
- # *Oxidación*

3. - *Medida incorrecta del volumen de agua, uso de agua de calidad no deseada. Debe emplearse agua que cumpla con los requisitos que marca la Farmacopea para agua purificada.*

4. - *Uso de recipientes contaminados con detergentes u otros agentes químicos.*

5. - *Mezclado o disolución incompleta del medio que conduce (medio no homogéneo).*

6. - *Sobrecalentamiento durante la preparación y/o la esterilización, o debido a repetidos procesos de fusión y/o ebullición prolongada.*

7. - *Determinación incorrecta de pH.*

8. - *Incorporación de suplementos en forma incorrecta; Ejemplos:*

* *Sangre contaminada*

* *Adición a alta temperatura*

* *Adición a baja temperatura*

* * * * * *Calificación antes del
mezclado adecuado.*

Las fallas del medio deben determinarse tomando muestras del medio y sometiéndolas a control de calidad antes de usarlas. (16) (22)

RECOMENDACIONES PARA LA PREPARACION, ENVASE,
ESTERILIZACION, ALMACENAMIENTO Y USO DE
LOS MEDIOS DE CULTIVO

P R E P A R A C I O N

- Contar con manuales de preparación y esterilización de los medios de cultivo.
- Usar reactivos, ingredientes o productos deshidratados de marca, y proveedores que los prescriban para el fin al cual se van a destinar.
- Preparar únicamente, los volúmenes deseados respetando las indicaciones del marbete.
- Pesar, cuidadosamente el medio y los ingredientes en áreas libre de corrientes de aire y con poca humedad.
- Adicionar el agua, agitar vigorosamente y dejar reposar para iniciar la disolución.
- Si hace falta, calentar para lograr la disolución de los ingredientes. Efectuar esta operación en baño de agua, caliente, sobre rejilla de asbesto agitando continuamente.

- Los recipientes que se usen para disolver los medios de cultivo, deben tener una capacidad al menos, 2.5 veces mayor a la del volumen del medio que se desea preparar. (13)
- Ajuste de pH 25°C con potenciómetro ajustado.
- Usar agua recién destilada o recién desmineralizada que cumpla con las especificaciones de la Farmacopea para agua purificada o agua para inyección.
- El material de vidrio y/o acero inoxidable que se usa durante la preparación y emase de medios, deben haberse sometido a lavado y enjuagado exhaustivo.
- Los frascos que contienen los medios de cultivo deshidratados se guardarán en lugares frescos, secos y protegidos de la luz. (22) (23)
- Si el medio requiere de la adición de otros componentes (sangre, suero vitamínicos, etc.). Después de su esterilización, estos deben encontrarse estériles. (11) (12) (17)

ESTERILIZACIÓN

- Calor húmedo a temperaturas y tiempo definidos con el patrón de carga validado y/o por filtración. (11) (12) (13)
- El proceso de esterilización debe controlarse con bioindicadores. (13) (18)

- La autoclave debe contar con registros de temperatura, presión y tiempo por cada carga de esterilización, además de que se debe contar con una bitácora en donde se registra el material a esterilizar con la hora de inicio y término del ciclo y el nombre de la persona que lo realizó, así como el resultado de los controles de la esterilización.

(23)

- Evitar que los dedos hagan contacto con el borde del recipiente que contiene el medio. (22)

A L H A C E N A M I E N T O

- Los medios preparados se conservan perfectamente en refrigeración y protegidos con bolsas de plástico.
- Los medios preparados deben llevar fecha de preparación. (22) y esta debe registrarse en la bitácora de análisis para cada muestra.

USO DE MEDIOS PREPARADOS

- No se usarán medios secos.
- Las placas de medios de cultivo destinadas al aislamiento de colonias no deben presentar agua en su superficie.
- Antes de usar cualquier medio de cultivo, asegúrese que no este contaminado.
- Cada laboratorio de microbiología debe implantar un sistema práctico y permanente de control de calidad de los medios de cultivo y no depender exclusivamente del control de calidad que realiza el fabricante.

CONTROL DE CALIDAD DE MEDIOS DE CULTIVO PREPARADOS. (usuario)

1. - pH Potenciométricamente a 25°C (3-5 min.) el pH debe ser el especificado en la etiqueta.
2. - Esterilidad : Incubar el 4% de unidades a 35-37°C y a 20-25°C durante 5-7 días. Descartar.
3. - Debe realizarse las pruebas de promoción con cepas tipo y con cepas recién aisladas, por cada lote de esterilización, anotando el tamaño del inóculo utilizado para la sensibilidad específica de cada uno

(usar no mas de 100 microorganismos), y reportar el porcentaje de recobro Ejemplo : Se inoculó una muestra con 80 microorganismos y obtuvimos en el medio de cultivo 79 UFC por lo tanto el porcentaje es:

$$\frac{80}{79} \times 100 = 98\% \text{ de recobro}$$

- 4.- Estabilidad. Periodicamente efectuar los puntos 1, 2 y 3 a medios preparados y almacenados para determinar si las condiciones de almacenaje fueron apropiados o no. (22) (23)
- 5.- Los medio de cultivo deben tener fecha de caducidad y reanálisis.
- 6.- Si el medio de cultivo presenta alguna alteración debe ser desechado. (23)
- 7.- Cada frasco de medio de cultivo, deberá contar con la fecha que fue utilizado por primer vez y un número o lote. (23)

PROMOCION DE CRECIMIENTO

Objetivo: Verificar que:

1. - En los medios nutritivos líquidos se presente el desarrollo de Inóculo pequeños.
2. - En los medios Sólidos las características de las colonias sean las esperadas.
3. - En los medios de pre-enriquecimiento y enriquecimiento se obtenga una buena recuperación de los microorganismos deseados.
4. - En los medios selectivos se inhiban los microorganismos indeseables y se permita el crecimiento de los microorganismos deseados.
5. - En los medios diferenciales se presente el crecimiento típico de los microorganismos.
6. - En los medios para pruebas bioquímicas (indicadores) se presenten las reacciones deseadas.

(21) (22) (23) (24)

TECNICA DE MILES-MISHRA-IRWIN MODIFICADA

I. PREPARACION Y ESTANDARIZACION DEL MICROORGANISMO DE PRUEBA

1. Cultivar los microorganismos de prueba en medio sólido (AST)

Microorganismos para control de los medios de cultivo :

B. SUBTILIS	ATCC 6633
H. LUTEUS	ATCC 9341
C. ALBICANS	ATCC 10231
B. VULGATUS	ATCC 8482

2. Incubar a la temperatura y tiempo requeridos para cada microorganismo.
3. Cosechar en solución reguladora de Fosfato pH 7.2 o en solución salina al 0.85 %.
4. Preparar una suspensión de tal forma que a 580 nm de una lectura entre 50 y 80 % de transmitancia.
5. A partir de la suspensión anterior preparar diluciones decimales y mediante la técnica del vaciado en placa seleccionar aquellas diluciones en las que se encuentren aproximadamente 10, 100 y 1000 UFC/ML.

II METODO

1. Preparar placas y/o tubos con los medios que se desean evaluar
2. Eliminar el exceso de humedad de la superficie del medio.

3. Dividir cada caja en tres sectores.
4. Con una pipeta serológica de 0.1 ml. graduada en centésimas o con una asa calibrada (0.02 ml) depositar cuidadosamente sobre la superficie del medio de cultivo 0.04 ml. o dos asadas de la suspensión del Microorganismo de prueba que contiene 1000 UFC/ML.

Aplicar el mismo procedimiento al medio control (agar soya tripticaseína)

5. Estritar con el asa el inóculo, si usó pipeta dejar que la gota se extienda.
6. Permitir la absorción del inóculo a temperatura ambiente por no más de diez minutos.
7. Incubar a la temperatura y tiempo adecuados para cada microorganismo de prueba.
8. Contar el número de unidades formadoras de colonias por ml. (22)

8. - CEPAS.

Las Cepas de referencia deberán contar con un registro anotando su Identificación Oficial y fecha de adquisición.

Su uso debe ser específico para cada prueba que marque la bibliografía.

El control de las mismas debe efectuarse para evitar mutaciones o contaminaciones y debe hacerse a través de pruebas Microscópicas (tinción de Gram), Morfología Macroscópica y pruebas Bioquímicas.

Cada cepa debe contar con un registro de resiembras según sean los requisitos de los Microorganismos, indicando el medio de cultivo utilizado y su número de lote. (ANEXO EJEHPLO) (23)

La adquisición de cada una puede hacerse en un laboratorio Oficial (S.S.A.). El cual expide su certificado de calidad y el tiempo en el cual expira. (ANEXO EJEHPLO).

NOTA: Generalmente el tiempo recomendado de cambio de cepa de referencia es de un año, para cepas liofilizadas el tiempo de conservación es mayor.

LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA

CEPA: _____

ATCC: _____

PROCEDENCIA: _____

CERTIFICADO: _____

CONTROL: _____

FECHA DE RESEMPRE	CARACTERISTICAS MICROSCOPICAS	CARACTERISTICAS MACROSCOPICAS	BIOQUIMICAS
3/MAR/92	Cocos Gram positivo En forma de racimo de uvas.	Colonias grandes convexas grisáceas frecuentemente pigmentada rodeada de una estrecha zona de beta Hemólisis.	Catalasa positiva Oxidasa negativa Coagulasa positiva
10/MAR/92	Cocos Gram positivo En forma de racimo de uvas.	Colonias grandes convexas grisáceas frecuentemente pigmentada rodeada de una estrecha zona de beta Hemólisis.	Catalasa positiva Oxidasa negativa Coagulasa positiva
1/ABR/92	Cocos Gram positivo En forma de racimo de uvas.	Colonias grandes convexas grisáceas frecuentemente pigmentada rodeada de una estrecha zona de beta Hemólisis.	Catalasa positiva Oxidasa negativa Coagulasa positiva

MEDIO DE CULTIVO PARA MANTENIMIENTO : _____

QUIMICO ANALISTA : _____

NOMBRE

FIRMA

OBSERVACIONES : _____



CERTIFICADO/0489005

LABORATORIO NACIONAL DE SALUD PUBLICA

Escherichia coli

CONTROL LNA-524

CEPA DE REFERENCIA

DESCRIPCION: SUBCULTIVO DE UNA CEPA CLASIFICADA POR "AMERICAN TYPE CULTURE COLLECTION" (ATCC No. 10536)

VIABILIDAD ----- CUMPLE

PUREZA ----- CUMPLE

IDENTIFICACION: PRUEBAS BIQUIMICAS ESPECIFICAS ----- CUMPLE

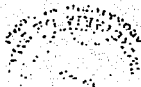
MEDIO DE CULTIVO PARA
MANTENIMIENTO:

AGAR NUTRITIVO (DIFCO 0001)

FORMULA POR INGREDIENTES:

PEPTONA	10.0 g
EXTRACTO DE CARNE	10.0 g
NaCl	5.0 g
AGAR	10.0 g
AGUA DEIONIZADA	100 ml
AJUSTAR A pH 7.0	
7.2	

TEMPERATURA: 37°C



9. - CONTROL AMBIENTAL

El medio Ambiente en la ejecución de análisis Microbiológicos es un factor importante para controlar el número de falsos positivos en los análisis.

Es por eso que la calidad del aire debe ser controlada por:

- a) Detección de partículas viables.
- b) Realización de limpiezas profundas con ayuda de sanitizantes o desinfectantes que han sido evaluados previamente su eficacia.

DETECCION DE PARTICULAS VIABLES.

Existen diferentes métodos de detección de microorganismos en el ambiente.

Su monitoreo puede ser dirigido por algunos de los siguientes procedimientos (6)

- Técnica de Sedimentación.
- Atracción Electrostática.
- Filtración.
- Técnica de Centrifugación.

Técnicas de Sedimentación

Exponer placas o cajas Petri con medio de cultivo al medio ambiente, incubar para detectar el número de microorganismos que sedimentaron en la superficie del medio

Atracción Electroestática

El aire es aspirado por bomba de vacío y pasa por dos placas, las cuales contienen medio de cultivo con cargas electroestáticas opuestas. Las partículas en el aire también son cargadas electrostáticamente y son atraídas por uno de los medios.

Filtración

Por presión o vacío una cantidad de aire es filtrada. Partículas y Microorganismos son detenidos en el filtro y éste es colocado en el medio de cultivo sólido.

Técnica de Centrifugación

Por movimientos rotatorios de aspas las partículas son centrifugadas.

La fuerza centrífuga mueve las partículas en dirección del medio de cultivo y son colocadas en la superficie del medio.

REALIZACIÓN DE LIMPIEZA PROFUNDA CON AYUDA DE SANITIZANTES

Esta área deberá contar con un manual de limpieza y sanitización con germicidas diferentes, para una rotación periódica, llevándose un registro de fecha, hora y personal que la llevó a cabo.

Cada vez que esta área sea usada, deberá llevarse un monitoreo ambiental por exposición de placas con medio de Agar Soya tripticaseína, durante el desarrollo de los análisis, lo cual quedará asentado en un registro que mencione el número de lote, del medio utilizado, esterilización, tiempo de exposición, fecha y prueba que se realizó. (23)

Los sanitizantes empleados tienen que ser validados o evaluados su eficacia.

El método más común para evaluar la eficacia de los sanitizantes es el del coeficiente fenólico, y consiste en comparar la actividad del desinfectante de prueba con la de Fenol, por lo que solamente debe aplicarse a compuestos derivados del fenol, aunque esta prueba se usa ampliamente en todas partes del mundo para evaluar desinfectantes no relacionados químicamente con el fenol que produce el resultado equivalente.

El coeficiente fenólico es el resultado de dividir la dilución del desinfectante en estudio, que mata el microorganismo de prueba a los 10 minutos de exposición, pero no a los 5 minutos entre la dilución del fenol que produce el resultado equivalente. (1) (23)

Este método es presentado en el manual *Of The Official Methods of Analysis (AOAC 1980)* y se basa en la determinación del porcentaje de reducción de una población bacteriana, cuando se pone en contacto con un germicida bajo condiciones específicas de prueba.

10. - MATERIAL DE LABORATORIO.

El material utilizado en esta área deberá ser lavado en forma independiente del utilizado en otras áreas. (23)

LAVADO DEL MATERIAL (3)

- El analista colocará el material que haya utilizado en charolas metálicas separadas, unas para material sucio y contaminado o procedente de un análisis y otro para el material únicamente sucio, que proviene de preparación de medios buffer, etc.
- El material contaminado o procedente de un análisis debe someterse a un proceso de esterilización en autoclave (riesgo alto).
- Ya esterilizado el material debe:
 - a) Eliminarsé de residuos .
 - b) Eliminarsé de sustancias adheridas al material.
 - c) Limpiarsé con detergente (D-exiran o zigma clin).
 - d) Eliminarsé de detergente.
 - e) Enjuagarsé con agua purificada.
 - f) Secarsé.

El material que se usa en el Laboratorio debe clasificarse su manejo y calibrarse adecuadamente para que sea utilizado en forma correcta.

Debe existir un control de material en uso, en reserva y el que se solicita, para ayuda y confiabilidad de los resultados ya que antes de

efectuar una requisición de material para laboratorio. Se debe revisar las características y usos recomendados por los fabricantes.

Se debe llevar un registro del material existente en cada área, clasificándolo por tipo de material, composición, uso que se destina e indicando si requiere o no calibración. (4)

CALIBRACION

Todo material que se emplea para efectuar mediciones como: Pipetas, matraces aforados, buretas, etc., deberán ser calibrados previo a su uso, utilizando métodos de calibración oficiales, y su registro de calibración debe efectuarse en una bitácora que contenga los siguientes datos:

MATERIAL
COMPOSICION
FECHA DE ADQUISICION
PROVEEDOR
METODO DE CALIBRACION
ANALISTA

MANEJO Y TRATAMIENTO

El manejo y tratamiento del material del Laboratorio es importante para el aseguramiento y confiabilidad de los resultados analíticos.

El tratamiento y manejo del material se consideran responsabilidades tanto del Químico o Técnico analista, como del personal encargado de su limpieza, por lo que se debe establecer un manual de procedimientos de limpieza, tratamiento y conservación de dichos materiales.

Para obtener un mejor resultado en el proceso de limpieza del material, el personal procederá a mover residuos y lavar el material tan pronto se pueda, a fin de que las sustancias residuales se adhieran lo menos posible al material del Laboratorio.

Los residuos de los procesos analíticos Microbiológicos deben ser sometidos a una esterilización previa, una vez esterilizados deberán eliminarse. (Una alternativa para su desecho es usarlas como abono a las plantas).

Para tener un manejo y tratamiento adecuado del material, deben considerarse ciertas precauciones generales como por Ejemplo:

No utilizar el material en condiciones de temperatura superiores a las que indica el fabricante.

- No usar sustancias Químicas que puedan dañarlos.
- No utilizar en su lavado material abrasivo.

Debido a la importancia que puede significar un buen lavado de material, se requiere que el personal que realice esta tarea debe estar bien capacitado, para que le permita diferenciar el manejo de cada tipo de material, considerando su resistencia a ácidos, álcalis, calor, etc.

ESTERILIZACION

El material estéril deberá ser preparado por personal capacitado. (3) (4)

El Método de elección para su esterilización, es por calor seco (Horno), el cual debe usarse respetando los patrones de carga establecidos y variados.

Los hornos deberán contar con un registro de temperatura, por cada carga de esterilización; además de que se contará con una Bitácora en donde se registra el material a esterilizar, el tiempo, temperatura, mínima y máxima, hora de inicio y término, nombre y firma de la persona encargada y el método utilizado para la verificación de la uniformidad de temperatura. (23)

El material esterilizado, podrá ser almacenado en anaqueles especiales por no mas de 48 horas, lo cual deberá ser comprobable. (23)

11.- METODOS ANALITICOS EMPLEADOS EN EL LABORATORIO

Las muestras deben ser analizadas de acuerdo con los métodos analíticos detallados o referidos a las especificaciones;

La precisión, sensibilidad y reproducibilidad deben ser característicos del método.

Los métodos deben estar escritos y bien documentados.

Los métodos deben incluir la interpretación de las pruebas, cuando están establecidas y deben estar en el área correspondiente al alcance del analista. Las páginas deben estar protegidas para evitar la desintegración del papel. (6)

METODOS GENERALES

PRUEBAS DE ESTERILIDAD (2) (5) (14) (24)

01. Fundamento: Se basa en detectar formas vivas de microorganismos en medios de cultivo específicos para bacterias, hongos y/o levaduras.

En productos esterilizados por procedimientos físicos.

Alcance: Se aplicará a todos los productos estériles.

CONDICIONES DE LA PRUEBA

El equipo y reactivos que se usan en las pruebas deben cumplir con los siguientes requisitos:

- Los aparatos empleados tienen que estar debidamente calibrados.
- Los disolventes y reactivos son grado reactivo.
- El agua empleada debe ser recientemente destilada.
- El material de vidrio es borosilicato y estéril.
- Los envases de las muestras deben desinfectarse previamente a su introducción al área de trabajo.
- Si el producto tiene su diluyente también debe satisfacer la prueba de esterilidad.
- La prueba se debe desarrollar en áreas asépticas, las cuales deben monitorearse periódicamente para comprobar su baja contaminación.
- Debe evitarse durante el desarrollo de la prueba, la exposición de luz ultravioleta y el tratamiento con aerosol

EQUIPOS Y REACTIVOS

AUTOCLAVE

INCUBADORAS (20-25°C) (30-32°C)

CAMPANA DE FLUJO LAMINAR

EQUIPO DE FILTRACION DE MEMBRANA

FILTROS DE MEMBRANA DE POROSIDAD 0.45 I 0.02 MICRAS

MIRISTATO DE ISOPROPILLO DE pH IGUAL A 5.5 O MAS

POLISORBATO 80

MATERIAL USUAL DE LABORATORIO.

MEDIOS DE CULTIVO

Son preparados y certificados como anteriormente se describió en el inciso 7.

MÉTODOS (5)

A) FILTRACION A TRAVES DE MEMBRANA.

Este procedimiento se utiliza para preparaciones acuosas, alcohólicas u oleosas, miscibles o solubles en agua o solventes oleosos que no presentan actividad microbiana bajo las condiciones de la prueba.

B) TRANSFERENCIA DIRECTA.

Se puede aplicar a los productos que no contienen actividad bacteri- cida o fungistática o si la tienen se les puede inactivar "IN SITU"

INTERPRETACION

Examinar los tubos con el medio de cultivo una vez transcurrido el perio- do de incubación, observar si hay evidencia de contaminación microbiana por presencia de turbiedad.

Si no hay desarrollo microbiano, las muestras satisfacen la prueba de esterilidad. (50 (14)

En caso contrario, repetir la prueba en las mismas condiciones; si hay evidencia de contaminación microbiana en la segunda prueba, aislar el o los contaminantes de la primera y segunda prueba y si estos no son diferentes, las muestras no satisfacen la prueba de esterilidad.

Si el o los contaminantes son diferentes, analizar el doble de la cantidad de muestras analizadas inicialmente.

La prueba de esterilidad es satisfactoria si no hay contaminación microbiana.

CUENTA TOTAL MICROBIANA

El laboratorio debe contar con una área de trabajo para análisis microbiológicos de productos no estériles. (23)

FUNDAMENTO (2) (5) (6) (14) (24)

La prueba se basa en el desarrollo y aislamiento de los microorganismos presentes en un producto, dando las condiciones favorables de manera de que se permita su conteo.

ALCANCE: Para todo producto oral o tópico en que lo especifique.

CONDICIONES DE LA PRUEBA: Similares a los de las pruebas de esterilidad.

MEDIOS DE CULTIVO: Son preparados y certificados como anteriormente se describe en el inciso 7.

METODO

Tomar 1 g. o 1 ml. de muestra de cada uno de 10 envases a analizar.

En el caso de Grageas o Tabletas, moler para favorecer la solubilidad.

Los líquidos deberán agitarse, sin provocar espuma, antes de tomar la alicuota.

Diluir la mezcla anterior (10 g. o 10 ml) con 90 ml de Buffer de Fosfatos.

Para unguentos, cremas, etc. no miscibles en agua, tomar 10 gramos de muestra y agregar de 1 a 10 ml de un agente emulsificante estéril, como el polisorbato y llevar a 100 ml con la solución diluida de fosfatos y agitar. Si es necesario calentar en baño María a una temperatura que no exceda de 45°C.

INTERPRETACION

El número de colonias por gramo o mililitro de muestra, debe estar dentro de los límites establecidos.

Algunas empresas de acuerdo a sus experiencias marcan las siguientes especificaciones (6) (Anexo tabla)

PRODUCTOS	AEROBIOS (A) HONGOS Y LEVADURAS (M + Y)	MÁXIMO CFU/g 0 ml	RECOMENDADO CFU/g 0 ml	REQUERIMIENTOS CUALITATIVOS MÍNIMOS AUSENCIA DE MICROORGANISMOS ESPECÍFICOS POR UNA MUESTRA DADA (g o ml)
A. ORALES				
1. DERIVADOS DE FUENTES NATURAL (EJE, ENZIMAS CRUDAS, ETC.)	A M + Y	10^6 10^2	10^3 10^2	<i>Salmonella</i> sp. 10
2. SÓLIDOS (TABLETAS, CÁPSULAS, POLVO).	A M + Y	10^3 10^2	10^2 10^2	<i>Escherichia coli</i> 1
3. LÍQUIDOS	A M + Y	10^3 10^2	10^2 10^2	
B. TÓPICOS				
SE SOBRE ENTIENDE :				<i>Staphylococcus aureus</i> 1
1. PIEL INTACTA	A M + Y	10^3 10^2	10^2 10^2	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1 <i>Escherichia coli</i> 1
2. HERIDAS LEVES O ESCORIACIONES EN LA PIEL :				
A: NO ACUOSA	A M + Y	10^3 10^2	10^2 10^2	<i>Staphylococcus aureus</i> 10 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 10 <i>Candida</i> sp. 10
B: ACUOSA	A M + Y	10^2 10^2	10^2 10^2	<i>Clostridia</i> 10 <i>Enterobacteriaceae</i> 1
3. HERIDAS PROFUNDAS O DAÑOS EXTENSOS EN LA PIEL				LIBRE DE AEROBIOS Y ANAEROBIOS EN 10 g o 10 ML DE MUESTRA
C. RECTALES O VAGINALES				
	A M + Y	10^3 10^2	10^2 10^2	<i>Staphylococcus aureus</i> 1 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> 1 <i>Candida</i> sp. y <i>Escherichia coli</i> 1
D. MATERIA PRIMA DEPENDIENTE DEL USO QUE SE LE DE A ESTA MATERIA PRIMA				
E. ENVASES PRIMARIO PARA LÍQUIDOS Y SEMISÓLIDOS : NO HAY LÍMITE ESTABLECIDOS				

(A) = AEROBIOS TOTALES, INCLUYENDO BACTERIAS, HONGOS Y LEVADURAS.

(M + Y) = HONGOS Y LEVADURAS TOTALES, EXCLUYENDO BACTERIAS

IDENTIFICACION DE ALGUNOS MICROORGANISMOS DE INTERES EN PRODUCTOS FARMACEUTICOS. (25).

CEPAS DE REFERENCIA:

- *Escherichia coli* ATCC 10535
- *Salmonella* sp
- *Pseudomona aeruginosa* ATCC 25619
- *Staphylococcus aureus* ATCC 6538B

METODOLOGIA: (2) (6) (10) (11) (12) (14) (24)

Suspensión del microorganismo tipo o referencia.

Transferir con una asa, una porción de cultivo madre o de referencia a 100 ml de fluido de caseína de soya. Incubar por 18-24 horas.

Transferir con una asa, una porción de cultivo anterior a 100 ml de fluido de lactosa, e Incubar por 18-24 horas.

PREPARACION DE LA MUESTRA.

Homogenización de la muestra:

Dependiendo de la forma farmacéutica por analizar, seleccionar el método correspondiente.

- a) *Tabletas y grageas.* - Reducirlas a un polvo fino para favorecer la solubilidad.
- b) *Fluidos miscibles con agua.* - Agitarlos para homogenizarlos, antes de tomar las alicuotas, evitando la formación de espuma.

c) Cremas, ungentos y pomadas. - No miscibles con agua, agregar 1 ml de polisorbato 20 estéril y calentar suavemente a temperatura que no exceda de 45°C con agitación constante.

d) Aerosoles. - Enfríar los recipientes en una mezcla de hielo seco alcohol, por una hora cortar el recipiente para abrirlo y dejar que alcance la temperatura del medio ambiente y que el propelente escape. Se puede calentar suavemente en baño María para eliminar el propelente de manera más rápida.

PREPARACION DE LA MUESTRA: (*)

Tomar 10 ml ó 10 g de la muestra homogenizada, y transferirlos a un matraz que contenga 90 ml de medio fluido digerido de caseína-soya, mezclar e incubar por 18 a 24 horas.

Tomar 10 ml a 10 g de la muestra homogenizada y transferirlos a un matraz que contenga 90 ml de medio fluido de lactosa.

IDENTIFICACION DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS: (10) (11)

Tomar con una asa porción del cultivo obtenido en el inciso anterior (*) inocular por estria cruzada la superficie de una caja petri que contenga medio de agar Vogel-Johnson y a otra que contenga agar 110 o bien cajas con medio Baird-Parker, Sal, Manitol etc.

Si las cajas petri correspondientes a la muestra y al testigo, no presentan desarrollo o éste no coincide con las características del microorganismo según la especificación, se invalida y se repite.

Si solo las cajas que corresponden a la muestra, no tiene desarrollo o éste no coincide con las características de la bacteria y el control positivo si tiene desarrollo, la muestra esta libre del staphylococcus aureus.

Si las cajas petri correspondientes a la muestra y al testigo poseen desarrollo microbiano característico, realizar tinciones de gram y confiar el resultado con la prueba de la coagulasa.

IDENTIFICACION DE PSEUDOMONA SP: (10) (11)

Tomar con una asa, una porción del cultivo, anterior (*), inocular por estria cruzada la superficie de una caja petri que contenga medio de agar cetrimida, otra con agar P (base) y una tercera con agar F (base) ambas para Pseudomonas. Sembrar paralelamente el control positivo, incubar las cajas por 48 Horas.

Si las cajas petri correspondientes a la muestra y al testigo no presentan desarrollo o éste no concuerda con lo especificado, la prueba se invalida y se repite.

Si solo las cajas petri correspondientes a la muestra no tiene desarrollo o este no coincide con las características descritas, la muestra esta libre de pseudomona sp.

IDENTIFICACION DE ESCHERICHIA COLI:

Tomar con una asa, una porción del cultivo obtenido en el inciso anterior (*) e inocular por estria cruzada una caja petri que contenga medio de

agar MacConkey, hacer una prueba paralela en el mismo medio, con un cultivo tipo de *Escherichia coli*, incubar ambas placas por 24-48 hrs.

Si las cajas Petri de la muestra y el testigo no presentan desarrollo o éste no coincide con las características descritas, invalidar la prueba y repetir el procedimiento.

Si solo la caja Petri correspondiente a la muestra, no tiene desarrollo o éste no coincide con las características descritas, la muestra está libre de *Escherichia coli*.

Si las cajas Petri de la muestra y el testigo poseen desarrollo característico, con una asa transferir individualmente las colonias a una caja Petri que contenga medio de agar Levine-Eosine azul de metileno, incubar por 24-48 hrs. Si después de la incubación las colonias de la muestra y el testigo tiene brillo metálico con luz reflejada y color azul-negro con luz transmitida, realizar tinción de Gram y llevar a cabo las pruebas confirmatorias de *Escherichia coli*.

PRUEBAS CONFIRMATORIAS DE *ESCHERICHIA COLI* :

Transferir las colonias obtenidas en el inciso anterior, a dos tubos, uno con 5 ml de medio líquido de McConkey y el otro con 5 ml de agua peptonada, incubar ambos a $44 \pm 0.5^{\circ}\text{C}$ por 24 hrs. observar si hay producción de ácido y gas en el tubo de medio líquido de McConkey y producción de indol en el agua peptonada. La producción de indol se pone de manifiesto al agregarle 0.5 ml de reactivo de Kovac's al tubo con agua peptonada agitar

bien y dejar en contacto por 1 minuto, si se produce color rojo en la fase del reactivo, la prueba es positiva. Comparar la muestra con el testigo.

IDENTIFICACION DE SALMONELLA SP: (10) (11)

Tomar 1 ml del cultivo de la muestra obtenida, e inocular a dos tubos que contengan 10 ml de medio fluido de cistina selénica y 10 ml del medio fluido de tetrationato, respectivamente, incubar de 12-24 hrs. De cada uno de los dos cultivos inocular por esteria cruzada la superficie de cajas Petri con: agar verde brillante, agar xilosa-lisina desoxicolato y agar sulfito-bismuto; incubar las cajas Petri por 18 - 24 hrs. Proceder de la misma manera con el cultivo tipo de Salmonella.

Si las cajas, tanto de la muestra como del testigo, no tiene desarrollo o éste no tiene la morfología característica, se invalida la prueba y se repite.

Si solamente las cajas de la muestra no poseen desarrollo o éste no tiene la morfología característica, la muestra está libre de Salmonella sp.

Si la muestra y el testigo presentan desarrollo microbiano característico realizar tinción de Gram.

Realizar la prueba confirmatoria de Salmonella sp.

Transferir individualmente las colonias que muestran las características a tubos que contengan medio de agar de hierro y triple azúcar, inocular la superficie de éste por estria y el fondo por picadura y a tubos que contengan 5 ml de caldo urea, incubar por 18-24 hrs. La formación del ácido-color amarillo y gas en el fondo sin, o con obscurecimiento por presencia de ácido sulfhídrico y la alcalinidad color-rojo, en el desarrollo superficial del tubo, en medio de agar hierro y triple azúcar, junto con la prueba negativa en el caldo urea (ausencia de color rojo), indicar la presencia de *Salmonella sp.* Si hay producción de ácido pero no de gas en el fondo del tubo, la identidad del microorganismo, se debe confirmar con pruebas de aglutinación. Seguir el mismo procedimiento con el testigo.

CONSERVADORES

ORGANISMOS DE PRUEBAS:

<i>Aspergillus niger</i>	ATCC	16404
<i>Candida Albicans</i>	ATCC	10231
<i>Escherichia coli</i>	ATCC	8739
<i>Pseudomona aeruginosa</i>	ATCC	9027 o ATCC 19429, NCTC 0750, NCIB 6750
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC	6538, NCTC 10788, NLIB 9518.

PREPARACION DEL INOCULO:

Transferir por separado una porción de cepa de cada uno de los microorganismos de prueba a un tubo de agar inclinado con el medio de cultivo de elección e incubar a la temperatura de acuerdo a la siguiente tabla:
(2) (14)

MICROORGANISMOS	HEDIO DE CULTIVO	TEMPERATURA INCUBACION	TIEMPO DE INCUBACION
<i>Asperigillus niger</i>	Sabouraud	20 - 25°C	7 dias
<i>Candida albicans</i>	Sabouraud	20 - 25°C	7 dias
<i>Escherichia coli</i>	Agar de soya tripticaseina	30 - 35°C	18-24 hrs.
<i>Pseudomona Aerugi-nosa.</i>	Agar de soya tripticaseina	30 - 35°C	18-24 hrs.
<i>Staphylococcus aureus.</i>	Agar de soya tripticaseina	30 - 35°C	18-24 hrs.

PRUEBA DE EFECTIVIDAD PARA PERSERVATIVOS ANTIMICROBIANOS:

Suspender el desarrollo de microorganismos en 10 ml de solución salina estéril o agua estéril peptonada al 0.1% y transferir la suspensión a un matraz estéril, diluirla hasta que la cuenta microbiana sea aproximadamente 100 millones de microorganismos/ml. En el caso de *A. niger*, agregar además 0.05 ml de polisorbato 80 por cada 100 mililitros de diluyente y diluir para ajustar la cuenta de esporas.

NOTA: Los microorganismos pueden cultivarse en medio líquido, posteriormente centrifugar las células bacterianas a las esporas, lavarlas con solución salina estéril y diluirlas con la misma solución hasta obtener la concentración de células o esporas especificadas anteriormente.

Determinar el número de microorganismos viables por cada mililitro de la suspensión en cuenta total microbiana; si las soluciones microbianas no se utilizan de inmediato monitorearlas periódicamente por el mismo método para determinar cualquier pérdida de viabilidad y conservarlas en refrigeración.

PROCEDIMIENTO.

A) Tomar 5 muestras del medicamento analizar (de un solo lote), si el envase del producto puede inocularse directamente a través del tapón con una jeringa y aguja, llevar la prueba en el mismo envase, si no es posible transferir el contenido de cada envase a un matraz o tubo con tapón rosca. Inocular cada matraz o envase del producto con cada una de las suspensiones microbianas transfiriendo 10 ml del inóculo por cada 20 ml o 20 g de muestra del producto y mezclar; (si es necesario auxiliarse con perlas de vidrio estériles). (2.) (14) (24)

El volumen del inóculo no debe exceder el 1% del peso o volumen del contenido total de envase, de manera que existan, entre 100 000 y 1 000 000 de microorganismos por cada envase o matrás. Correr el control inoculando el mismo volumen o peso de la muestra de agua peptonada al 0.1% estéril, contenida en 5 matraces, con cada uno de los microorganismos sea similar a lo correspondiente en la muestra (esto se hace para comprobar la efectividad del medio de cultivo y conocer la concentración inicial de microorganismos).

- B) Incubar los envases o matraces previamente inoculados a la temperatura de almacenamiento específica para el producto (si no la hay incubar entre 20 - 25°C).
- C) Determinar la concentración de microorganismos por mililitro o gramo de muestra.
- D) Tomando en cuenta la concentración inicial determinada por cuenta viable total de cada microorganismos por mililitro o gramo de la muestra.

Calcular el cambio de porcentaje de la concentración de cada microorganismo a los diferentes tiempos de incubación. (6, 24, 48 horas y 7 14 y 28 días).

INTERPRETACION:

LOS PRODUCTOS INYECTABLES Y OFTALMICOS DE DOSIS MULTIPLE:

La cuenta total microbiana de *E. coli* *Ps. aeruginosa* y *St. aureus* por mililitro o gramo de la muestra debe disminuir por lo menos 1 000 veces de la concentración inicial a las 6 y 24 horas no debe haber desarrollo.

La cuenta total microbiana de *C. albicans* y *A. niger*, por mililitro o gramo de muestra debe disminuir por lo menos 100 veces de la concentración inicial a los 7 días.

La concentración de microorganismos no debe incrementarse posteriormente.

PRODUCTOS TOPICOS DE DOSIS MULTIPLES:

La cuenta total microbiana de E. coli, Ps. aeruginosa y St. aureus por mililitro o gramo de muestra debe disminuir por lo menos 1000 veces después de 7 días no debe haber desarrollo.

La cuenta total microbiana de C. albicans y A. niger por mililitro o gramo de muestra debe disminuir por lo menos 100 veces de la concentración inicial y a los 28 días no debe haber desarrollo.

PRODUCTOS ORALES LIQUIDOS:

La cuenta total microbiana de E. coli, Ps. aureginosa y ST. aureus por mililitro o gramo de muestra, debe disminuir por lo menos 1 000 veces la concentración inicial a las 48 horas y a los 28 días no debe haber desarrollo.

La cuenta total de C. albicans y A. niger por mililitro o gramo de muestra debe disminuir por lo menos 100 veces, la concentración inicial, la concentración de los microorganismos no debe incrementarse posteriormente.

A) COLIFORMES (5) (6) (14) (23)

INOCULAR TODOS DE FERMENTACION CONTIENEN CALDO LAURIL E INCUBAR A 45°C POR 24 HORAS + 2.

(4)
PRODUCCION DE GAS, TRANSFERIR A CALDO VERDE BRILLANTE BILIS LACTOSUS INCUBAR A 30°C Y (35°C) + 0.5 A 48 HORAS.

(4A)
PRODUCCION DE GAS, TRANSFERIR A PLACAS CON INOCULO O EN BOCAR INCUBAR 24 HORAS A 30°C Y (35°C) + 0.5 A 48 HORAS.

(4.1)
COLOCAR DE COLIFORMES TÍPICOS O ANTÍTICOS TRANSFERIR A MEDIOS DE AGUA NUTRIENTE Y CALDO DE LAURIL TRIPLES. INCUBAR EL AGUA NUTRIENTE DE 12-24 HORAS Y EL CALDO DE LAURIL TRIPLES DE 12-24 HORAS EN 45°C HORAS A 100°C + 10°C + 0.5.

(4.1.1)
PRODUCCION DE GAS Y TUBOS DE GRUPO A COLUMNAS DE AGUA NUTRIENTE.

(4.1.1)
COCOS DE GRUPO NEGATIVOS, NO RESECCIONADOS; PRESENCIA DEL GRUPO COLIFORME NEGATIVO; COCCOS DE GRUPO POSITIVO Y NEGATIVO; REFERIR EL PROCEDIMIENTO TESTE 1.1

(4E)
NO PRODUCCION DE GAS; ASENCIA DEL GRUPO COLIFORME

(4.2)
COLOCAR NEGATIVOS; ASENCIA DEL GRUPO COLIFORME.

(4E)
NO PRODUCCION DE GAS; ASENCIA DEL GRUPO COLIFORME.

(4.1.2)
COCOS DE GRUPO POSITIVO O RESECCIONADOS; ASENCIA DEL GRUPO COLIFORME.

(2)
NO PRODUCCION DE GAS O DUDOSA, INCUBAR 24 HORAS ADICIONALES (TOTAL 48 + 24 HORAS)

(A)
PRODUCCION DE GAS O DUDOSA (CONTINUAR COMO EN (1)).

(B)
NO PRODUCCION DE GAS; ASENCIA DEL GRUPO COLIFORME.

(CUENTA TOTAL DE COLIFORMES)

POTENCIAS

Un método alternativo para la valoración de antibióticos, es la difusión en placa.

Este método se basa en la presencia de zonas de inhibición, formadas por la difusión de un antibiótico dado, a través de un medio de cultivo sólido, previamente inoculado con un microorganismo sensible, y la posterior comparación de los diámetros de esas zonas, con las formadas por una solución equivalente del patrón de referencia.

12. - PROCESAMIENTO DE LAS MUESTRAS:

Las muestras que reciba el Laboratorio de microbiología se someterán a un proceso que consta de los siguientes pasos:

- a) Recepción y Registro.
- b) Almacenamiento previo al Análisis.
- c) Orden de Análisis.
- d) Análisis.
- e) Informe Analítico.
- f) Almacenamiento de muestras de retención.

a) RECEPCIÓN Y REGISTRO

Se contará con una zona específica de muestras y se llevará un registro de estas con los siguientes datos: (4) (6) (10)

- Número consecutivo de entrada.
- Fecha de entrada.
- Nombre de quien solicita el análisis.
- Nombre de la muestra.
- Número de lote.
- Descripción física de la muestra (granel, terminado, intermedio, etc) y cantidad de las piezas (kg, piezas, etc).
- Pruebas solicitadas y método analítico a emplear.
- Sustancia de referencia. (se registrará el origen de la sustancia patrón que se utilice).
- Identificación de la muestra con el número consecutivo de entrada (lote número que deberá aparecer en todos los pasos y documentos que comprende el procesamiento de la muestra.

b) ALMACENAMIENTO PREVIO AL ANALISIS.

Mientras la muestra permanece en espera de su análisis debe ser almacenada en una zona delimitada y designada para el efecto en condiciones que no permitan la alteración de la muestra.

c) ORDEN DE ANALISIS

El responsable técnico del área o la persona que éste designe para realizar el análisis registrará los siguientes datos :

- Identificación de la muestra.
- Solicitante del análisis
- Pruebas y métodos a utilizar.
- Sustancias de referencia usadas.
- Nombre del analista que realizó el análisis.
- Fecha y firma de la persona que emite el análisis.

d) ANALISIS

Cada analista contará con una libreta de trabajo la cual puede ser personal o general para cada determinación (Ejemplo: Esterilidades, cuentas viables, potencias). (6)

El jefe de Laboratorio o Supervisor tendrá el control de la entrega de las libretas, las cuales deben ser foleadas con hojas numeradas consecutivamente y con un número de registro a partir de la fecha de su inicio: (6)

Ejemplo:

	LIB. 1 - 10	
	↑	↑
Número de libreta		Folio de la hoja.

El analista al recibir la muestra registrará en su libreta:

- El nombre de la muestra.
- Lote y/O ingreso.
- Código.
- Cantidad de muestra sembrada.
- Número de recipientes o envases muestreados.
- Fecha de muestreo.
- Fecha de Análisis.
- Fecha de salida del análisis.
- Lote del medio de cultivo usado.
- Fecha de preparación del medio del cultivo.
- Sustancia de referencia a utilizar (potencias).

El analista procederá en primer término a observar y describir las características físicas de la muestra.

A lo largo del análisis el analista registrará todas las observaciones y operaciones analíticas que efectúe: Pesadas, diluciones, cálculos, etc.

Se utilizará bolígrafo para las anotaciones, y los valores equivocados no serán borrados, sino que por algún medio se les aislará y distinguirá de los valores correctos.

Las libretas de trabajo de los analistas son parte de la documentación comprobatoria del laboratorio y por lo tanto se consideran propiedad del laboratorio y deberán permanecer en éste, por todo el tiempo que se considere pertinente. (5 años, es el tiempo que generalmente se considera prudente conservar dicha documentación o un año posterior al vencimiento de la fecha de caducidad para productos que se les asigna un período de vida).

Es por eso que en el momento de haberse agotado las hojas, el analista entregará la libreta a su supervisor o jefe de área; el cuál procederá a revisar y que no falte ninguna hoja y que la libreta contenga toda la información que amparen los análisis.

e) INFORME ANALITICO <40 <23>

Al terminar el análisis, el analista que lo efectuó redactará un informe en los que aparezcan todos los datos consignados en la fecha de registro de la muestra.

El analista consignará todos los resultados obtenidos de las pruebas a que se sometió la muestra; confrontando sus resultados experimentales con los controles positivos y negativos y la especificación correspondiente.

El analista reportará sus resultados y de acuerdo a éste, firmará el reporte de conformidad o no conformidad.

El Responsable técnico de laboratorio o supervisor, examinará el informe y lo evaluará para aprobar o rechazar la muestra según sea el caso.

f) ALMACENAMIENTO DE MUESTRAS DE RETENCION.

El laboratorio analítico y los solicitantes del análisis serán los que determinen si procede conservar la muestra de retención de la muestra analizada.

Generalmente se retiene una cantidad (el doble de lo que requiere un análisis rutinario). Y se almacena en zonas aisladas, delimitadas, de preferencia en anaqueles y bajo condiciones ambientales que no puedan alterar sus características iniciales. (4) (6) (23)

13.- S E G U R I D A D

La seguridad depende de la disciplina y técnicas de cada individuo, como son todas las acciones y manipulaciones en el Laboratorio. (23)

Los riesgos de contaminación de origen biológico pueden originarse por el manejo de material con contaminación microbiológica o con toxinas. (4)

CONTAMINACION MICROBIOLÓGICA

Debe manejarse el material peligroso en campanas de flujo laminar vertical.

El material sucio que haya sido utilizado en microbiología deberá ser esterilizado antes de pasarlo a la recepción de material sucio en la zona de lavado.

Se recomienda el uso de guantes, mascarilla y anteojos de seguridad (4).

T O X I N A S

El material que se presume contener toxinas deberá ser inactivado por calor antes de ser desechado.

Se tendrá un instructivo sobre como operar cuando accidentalmente se rompa en el piso una caja Petri o un tubo con material contaminado.

14. - DOCUMENTACION

DOCUMENTOS Y PROCEDIMIENTOS GENERALES

14. REQUERIMIENTOS GENERALES.

- 14.1 *La documentación es de vital importancia. Su propósito es reducir el riesgo de error inherente al manejo de la formación mediante comunicación verbal, y constituye un instrumento de ayuda esencial en la investigación de la variabilidad de los procesos. Por ello es indispensable mantener actualizados y ordenados todos los documentos existentes en un establecimiento farmacéutico.*
- 14.2 *Todos los documentos serán escritos en forma clara y empleando vocabulario sencillo, indicando el tipo, naturaleza, propósito o uso del documento. En caso de contener algunas instrucciones, éstas serán escritas en secuencias lógicas, continua y numerada.*
- 14.3 *Todos los documentos maestros serán preparados, firmados y fechados por personas competentes y responsables. Después serán verificados firmados, y fechados por lo menos por otra persona que sea independiente de las primeras para efectuar una doble revisión y así minimizar la posibilidad de errores. Las personas se identificarán en el documento con su nombre y posición en la organización.*
- 14.4 *Cualquier modificación o cancelación de un documento maestro, será aprobado por una persona de reconocida autoridad dentro de la organización. Estas modificaciones se redactarán e incorporan al documento nuevo cumpliendo lo recomendado en el punto 14.3*
- 14.5 *Los documentos necesarios se emitirán a través de un método de reproducción que evite cualquier posibilidad de error durante la transcripción. Dichos documentos no deberán estar escritos a mano, ni contener borraduras o enmendaduras.*
- 14.6 *Todos los documentos y registros se archivarán en forma tal que permita su fácil acceso cuando sean requeridos.*
- 14.7 *La documentación de desviaciones y excepciones se mantendrá de tal manera, que la información pueda ser evaluada periódicamente con el objeto de establecer la necesidad de cambios en las especificaciones, procedimientos y manufactura o de Control de Calidad.*
- 14.8 *Se establecerán sistemas que aseguren que todo el personal involucrado reciba la información de las modificaciones aprobadas.*

14.9 Es indispensables contar con registros de cada análisis en cada lote y estos deberán conservarse por un lapso de 5 años si el producto no tiene fecha de caducidad y por un año después de esta, cuando la tenga.

14.10 Todos los documentos destinados a contener datos que deberán ser registrados, durante el proceso serán diseñados con espacio suficiente para ello y contendrán además un lugar para la identificación de la persona que realizó el registro, así como fecha y hora en caso de requerirse.(26).

PARA CUALQUIER DOCUMENTO:

- A) QUE FINALIDAD TIENE.
- B) QUE INFORMACION DEBE CONTENER PARA LOGRAR SU FINALIDAD.
- C) QUIENES PARTICIPAN EN SU ELABORACION.
- D) QUIENES LO APLICAN.
- E) A QUIENES SERVIRA LA INFORMACION EN EL CONTENIDA.
- F) CON QUE OTROS DOCUMENTOS ESTA INTERCONECTADO.

LOS DOCUMENTO DEBEN:

- ESTAR DONDE SE LES NECESITA.
- USARSE POR QUIEN LOS REQUIERE.
- USARSE SIN MODIFICACIONES NO AUTORIZADAS.
- LLENARSE VERAZ Y OPORTUNAMENTE.

GENERALES DEL DOCUMENTO:

1. ESCRITURA CLARA
2. VOCABULARIO SENCILLO
3. DEFINICION DEL TIPO, NATURALEZA, PROPOSITO Y USO DEL DOCUMENTO.
4. SECUENCIA LOGICA.
5. ESPACIOS ADECUADOS (CUANDO DEBA COMPLETARSE).
6. - TRANSCRIPCION POR PERSONA COMPETENTE Y AUTORIZADA, FIRMANDO Y FECHADO.
7. REVISADO POR OTRA PERSONA COMPETENTE Y AUTORIZADA, FIRMADA Y FECHADO.
8. EMITIDO POR UN SISTEMA DE COPIADO QUE EVITE CUALQUIER POSIBILIDAD DE ERROR EN LA TRANSCRIPCION.
9. MODIFICADO O CANCELADO POR PERSONA COMPETENTE Y AUTORIZADA. LA MODIFICACION ES VALIDA HASTA QUE SE INCORPORA AL DOCUMENTO EN SU VERSION OFICIAL.

GENERALES DEL USO DEL DOCUMENTO:

- NO ES MODIFICABLE MAS QUE POR EL MECANISMO OFICIAL AUTORIZADO.
- NO PUEDE LLENARSE A LAPIZ.
- NO PUEDE ENHENDARSE.
- PUEDE CORREGIRSE UN DATO ANOTADO ERRONEAMENTE TACHANDOLO CON UNA RAYA Y ESCRIBIENDO AL LADO EL DATO CORRECTO, FECHA E IDENTIFICACION DEL QUE CORRIGIO.
- DEBE LLENARSE VERAZ Y OPORTUNAMENTE.

La documentación es fundamental para:

- a) Evitar riesgos de error en el manejo de la comunicación verbal.
- b) Poder construir la historia de cualquier actividad que se haya desarrollado desde su origen hasta su terminación.

c) Poder utilizar las experiencias de las operaciones efectuadas para aplicarlas a otras actividades.

La documentación debe estar basada en informes escritos en forma clara que señalen el objetivo antecedentes, alcance y responsabilidades.

Los procedimientos o protocolos que forman parte de la documentación técnica del laboratorio, debe acompañarse de los registros o evidencias escritas de que se llevan a cabo.

Los Laboratorios adscritos a la Industria Farmacéutica mantendrán en los archivos los informes de los análisis practicados a materias primas, materiales, productos en proceso y terminado durante un año después de la fecha de caducidad y cinco años después de la fecha de análisis, si no tuvieran fecha de caducidad (4) (6) (26).

En forma indicativa, se sugiere que el Laboratorio cuente con los siguientes documentos:

- Manual de Políticas de garantías del Laboratorio.
- Procedimientos del Area.
- Registros de resultados analíticos.
- Registros de Métodos analíticos.
- Registros de Calibración de instrumentos, equipo y material.
- Registros de substancias de referencia.
- Registros de substancias controles rutinarios.
- Registros de validación de hornos, autoclaves y estufas.

La documentación debe ser: Clara, ordenada con pluma y sin borraduras.

Si existe alguna corrección en la información de un documento debe ser avalada por el que emitió el reporte o su jefe inmediato.

Los espacios en blanco de la bitácoras de trabajo deben ser cancelados. (6).

15. - OBSERVACIONES Y CONCLUSIONES

- 15.1 Se establecen los requerimientos mínimos necesarios para el buen funcionamiento de un Laboratorio de Microbiología, y se basa en las necesidades de Documentación, Procedimientos de Trabajo, Organización, Personal, Instalaciones, Equipo y Controles.
- 15.2 El personal responsable de analizar las muestras y dictaminar su aprobación o rechazo. Debe tener el conocimiento, Entrenamiento y ética profesional, para que realice las funciones analíticas. El entrenamiento en los procedimientos idóneos de Buenas Prácticas de Laboratorio, deberá llevarse a cabo por personas calificadas en una base continua y con suficiente frecuencia a modo de asegurar que el Técnico o Químico esté familiarizado con los requerimientos aplicables.
- 15.3 El índice de repeticiones a nivel de falsos positivos debe ser cuantificados, es recomendable no excederse de un 0.5 %.
- 15.4 La calidad del trabajo microbiológico depende en gran medida de la idoneidad de los medios de cultivo que se utilizan, ya que las mejores instalaciones y equipos disponibles, así como la destreza del analista, pierde todo su valor cuando la composición de los medios de los medios de cultivo no corresponden a la requerida, o cuando durante su preparación no se respetan las indicaciones.
- 15.5 Los medios de cultivo deben reunir condiciones físicoquímicas de actividad en agua.
- 15.6 La revisión, calibración de instrumentos y/o validación de equipos así como los indicadores (químicos y biológicos), y mecanismos registradores que no cumplan con las especificaciones establecidas para cada función, no deberán ser utilizados.
- 15.7 El área de microbiología debe contar con procedimientos de seguridad en el laboratorio para asegurar NO RIESGO en las manipulaciones en los análisis, controles y prácticas que se realizan.
- 15.8 Todos los análisis, controles (equipo, material, limpieza, desechos, ambientales y otros), deben mantenerse actualizados, Documentados y debidamente archivados.

COMO CONCLUSION SE PUEDE INFERIR, QUE SIGUIENDO ESTOS REQUISITOS MINIMOS DE BUENAS PRACTICAS DE LABORATORIOS, SE GARANTIZA UN FUNCIONAMIENTO ADECUADO, REPRODUCIBLE Y CONFIABLE EN LOS RESULTADOS ANALITICOS EJECUTADOS EN EL LABORATORIO DE CONTROL MICROBIOLOGICO.

18.- BIBLIOGRAFIA

- (1). AOAC METHODS ANALYSIS EDICION 1980

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS OF THE ASSOCIATION OF OFFICIAL AGRICULTURAL CHEMISTS.

- (2). BRITISH PHARMACOPOEIA 1988.

PUBLISHED ON THE RECOMMENDATION OF THE MEDICINES COMMISSION PURSUANT TO THE MEDICINES ACT 1968.

- (3). CIPAM (GUIAS DE PROCEDIMIENTOS ADECUADOS DE LIMPIEZA DE MATERIAL ANALITICO).

- (4). CIPAM

(GUIA DE PROCEDIMIENTOS ADECUADOS DE LABORATORIO ANALITICO).

- (5). FARMACOPEA DE LOS ESTADOS UNIDOS MEXICANOS.

QUINTA EDICION 1988, EDITOR DIRECCION GENERAL DE CONTROL DE INSUMOS PARA LA SALUD Y DIRECCION GENERAL DE COMUNICACION SOCIAL DE LA SECRETARIA DE SALUD, OCTUBRE 1988.

- (6). GMP POLICES JANSEN

- (7). GMPs. IN THE CHEMISTRY LABORATORY

J. GUERRA PHARM. TECH 10, 38, 1986.

- (8). GOOD LABORATORY PRACTICES IN GOVERNMENTAL CONTROL

LABORATORIES. WORLD HEALTH ORGANIZATION DUHO/
PHARM/84 512

- (9). *GOOD MANUFACTURING PRACTICES
FOR PHARMACEUTICALS A PLAN FOR TOTAL
QUALITY CONTROL*
SIDNEX H. WILLING
MURRAY H. TUCKERMAN
- (10). *INSTRUCCION A LA INDUSTRIA FARMACEUTICA.*
(INSTITUTO MEXICANO DE CAPACITACION DE LA INDUSTRIA FARMACEUTICA Y
QUIMICO FARMACEUTICA).
- (11). *HANUEL DIFCO. MEDIOS DE CULTIVO DESHIDRATADOS Y REACTIVOS PARA
MICROBIOLOGIA.*
10a. EDICION DETROIT, MICHIGAN, U.S.A.
DIFCO LABORATORIES. 1984. 1160 p.
- (12). *HERCK CULTURE MEDIA HANDBOOK 1988.*
- (13). *PREPARACION DE MEDIOS DE CULTIVO (VALIDACION CIPAM)*
- (14). *PHARMACEUTICAL MICROBIOLOGY (1977)*
W. B. HUGO & A. D. RUOSSELL
ED. BLACWELL SCIENTIFIC PUBLICATION.
- (15). *PROYECTO DE NORMAS TECNICAS PARA LOS LABORATORIOS DE CONTROL
ANALITICO AUXILIARES A LA REGULACION SANITARIA 1988.*

**ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA**

- (16). *QUALITY CONTROL IN MICROBIOLOGY (1973)*
ED. BY: JAMES E. PRIER D.V.H., PH D. JOSEPHINE T.
BARTOLA M.E.D., J.D. HERMAN FRIEDMAN, PH D.
UNIVERSITY PARK, PRESS.
- (17). *QUALITY ASSURANCE AND QUALITY CONTROL OF MICROBIOLOGICAL
CULTURE MEDIA.*
*(PROCEEDINGS OF THE SYMPOSIUM HELD ON 6TH. AND 7TH
SEPTEMBRE IN CALAS MALLORCA, SPAIN, 1979)*
EDITOR BY DR. JANET E.L. CORRY, LONDON.
- (18). *QUALITY CONTROL IN MICROBIOLOGY. 1973.*
EDITED BY JAMES E. PRIER. JOSEPHINE BARTOLA AND HERMAN FRIEDMAN.
UNIVERSITY OF PARK PRESS.
- (19). *QUALITY ASSURANCE MANUAL FOR THE PHARMACEUTICAL AND
MEDICAL DEVICE INDUSTRIES. L. STEINBORN INTERPHARM.*
- (20). *QUALITY ASSURANCE PRINCIPLES FOR ANALYTICAL
LABORATORIES. F.H. GARFIELD AOAC. PRESS. 1984.*
- (21). *STANDARD METHODS FOR THE EXAMINATION OF DAIRY PRODUCTS. 1972.*
EDITED HAUSLER, JR., W.J. AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOC 13 N
EDITION WASHINGTON D.C. U.S.A.
- (22). *SEMINARIO DE VALIDACION DE MEDIOS DE CULTIVO (INSTITUTO MEXICANO DE
CAPACITACION DE LA INDUSTRIA FARMACEUTICA Y QUIMICO FARMACEUTICO)
(1990)*

- (23). *TEMAS SELECTOS DE MICROBIOLOGIA FARMACEUTICA.*
ESCUELA NACIONAL DE CIENCIAS BIOLÓGICAS INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
- (24). *THE UNITED STATES PHARMACOPEIA XXII, NATIONAL FORMULARY XVII. 1990*
EDITADA POR UNITED STATES PHARMACOPEIA CONVENTION, INC. 12601
TWINBROOK PARKWAY, ROCKVILLE, M. D. 2085.
- (25). *W. B. HUGO A. D. RUSSEL 1977, PHARMACEUTICAL MICROBIOLOGY, BLACKWELL*
SCIENTIFICA PUBLICATIONS. PP 163 Y 186.
- (25). *TALLER DE DOCUMENTACION (GMP TRENDS INC).*