



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLÁN

TECNICAS DE ANALISIS EMPLEADAS EN EL CONTROL DE
CALIDAD EN UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA EN UNA
EMPRESA DE PRODUCCION COSMETICA

TESIS

PRESENTADO POR:

MINERVA ESTELA VARILLER RAMÍREZ

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

QUÍMICA FARMACEÚTICA BIÓLOGA

ASESOR: **M. en C. ANDREA BECERRIL OSNAYA**

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX

2017



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 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.



UNIVERSIDAD NACIONAL
AUTÓNOMA DE
MÉXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE ADMINISTRACIÓN ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXÁMENES PROFESIONALES

ASUNTO: VOTO APROBATORIO

M. en C. JORGE ALFREDO CUÉLLAR ORDAZ
DIRECTOR DE LA FES CUAUTITLÁN
PRESENTE

ATN: I.A. LAURA MARGARITA CORTAZAR FIGUEROA
Jefa del Departamento de Exámenes Profesionales
de la FES Cuautitlán.

Con base en el Reglamento General de Exámenes, y la Dirección de la Facultad, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el: Trabajo de Tesis

Técnicas de análisis empleadas en el control de calidad en un laboratorio de microbiología en una empresa de producción cosmética.

Que presenta la pasante: Minerva Estela Variller Ramírez
Con número de cuenta: 093525572 para obtener el Título de la carrera: Química Farmacéutico Biológica.

Considerando que dicho trabajo reúne los requisitos necesarios para ser discutido en el EXAMEN PROFESIONAL correspondiente, otorgamos nuestro VOTO APROBATORIO.

ATENTAMENTE
"POR MI RAZA HABLARÁ EL ESPÍRITU"
Cuautitlán Izcalli, Méx. a 09 de Mayo de 2017.

PROFESORES QUE INTEGRAN EL JURADO

	NOMBRE	FIRMA
PRESIDENTE	M. en C. Andrea Angela Becerril Osnaya	
VOCAL	Dra. Flora Adriana Ganem Rondero	
SECRETARIO	M. en C. María Guadalupe Avilés Robles	
1er. SUPLENTE	M. en C. Socorro Sandra Martínez Robles	
2do. SUPLENTE	QFB. Jonathan Pablo Paredes Juárez	

NOTA: los sinodales suplentes están obligados a presentarse el día y hora del Examen Profesional (art. 127).

LMCF/cga*

Agradecimientos:**A Dios:**

Por permitirme haber realizado mi sueño de terminar mi tesis y darme día con día el valor, coraje y fuerza para hacerlo realidad y estar conmigo en cada momento de mi vida siendo siempre mi motor y por no haber dejado que me rinda en ningún momento e iluminarme para salir adelante.

A mi Esposo e Hijos

Tu que eres lo más maravilloso que he conocido y que siempre has estado presente en los momentos de alegría y tristeza, que con sus consejos me ha hecho reflexionar por lo bueno y lo malo. Para Ti que eres Especial y por ser la persona que siempre está pendiente de mis preocupaciones y que con tu compañía enriqueciste y diste estímulo a esta difícil etapa de mi vida de esposa, madre, trabajadora y estudiante, y que pueda yo recibir. Y gracias a nuestros hijos que con sus alegrías y sonrisas me dieron ánimo para seguir adelante.

A mis padres:

Por ser el pilar fundamental en todo lo que soy, en toda mi educación, tanto académica, como de la vida, por su incondicional apoyo perfectamente mantenido a través del tiempo. Todo este trabajo ha sido posible gracias a ellos. Por haberme apoyado en todo momento, por sus consejos, sus valores, por la motivación constante que me ha permitido ser una persona de bien

A mi asesora de tesis:

Andrea: por ser una excelente maestra y asesora, ya que con su gran apoyo, orientación, motivación y consejos, ayudaron en darme siempre ánimos para llegar a la culminación de esta tesis.

A mis amigos.

La amistad se caracteriza por la gran confianza que uno puede tener en que una persona siempre estará nuestro lado sin importar lo que tengamos que afrontar.”Recuerden que si tuviera que hacer un balance de mi vida y enumerar a todas las personas más importantes para mí, sin duda usted estará entre los primeros. “Gracias por todo!”

ÍNDICE	Página.
1. Técnicas de Análisis Empleadas en el Control De Calidad en un Laboratorio de Microbiología en una Empresa de Producción Cosmética.	6
Introducción	
1.1 Calidad y Control Microbiológico	6
2. Objetivo	9
2.1. Objetivo general.	9
2.2. Objetivos particulares	9
3. Aspectos Generales de mi Desempeño como recién Egresado de la Facultad.	10
4. Diagrama de Flujo General de las actividades desempeñadas en un Laboratorio de Microbiología.	11
5. Justificación.	12
6. Control de Calidad de un Laboratorio de Microbiología.	13
6.1. Elementos mínimos del Programa de Control de Calidad en Microbiología	15
6.2. Instalaciones.	16
6.3. Requisito de limpieza y desinfección del área de trabajo.	18
6.4. Limpieza del material de vidrio.	19
6.5. Esterilización.	23
6.6. Prueba empleadas para medios de cultivos.	24
6.6.1. Prueba de Esterilidad	25
6.6.2. Prueba de promoción de crecimiento	25
6.6.3. Toma de pH	26
6.7. Buenas Prácticas de Laboratorio de Microbiología	26
6.7.1. Equipos e instrumentos	26
6.7.2. Calificación de Diseño (DQ)	28
6.7.3. Calificación de Instalación (IQ).	28
6.7.4. Calificación de Operación (OQ).	29
6.7.5 .Calificación de Desempeño (OP).	29
7. Actividades periódicas como analista de microbiología	30
8. Metodología Microbiológica empleada como controles de calidad en un laboratorio de Microbiología.	31

ÍNDICE	Página.
8.1.1 Métodos o técnicas tradicionales del análisis microbiológico	32
8.1.2 Técnica Rápida (Bioluminiscencia).	37
8.2. Monitoreo Ambiental	40
8.2.1. Introducción.	40
8.3. Monitoreo de Sistema de Agua.	47
8.3.1. Método de Filtración por membrana	48
9. Análisis de Resultados.	52
10. Recomendaciones	56
11. Conclusiones	57
12. Glosario	60
13. Bibliografía.	63

1.- TECNICAS DE ANALISIS EMPLEADAS EN EL CONTROL DE CALIDAD EN UN LABORATORIO DE MICROBIOLOGIA EN UNA EMPRESA DE PRODUCCION COSMETICA.

INTRODUCCIÓN

1.1. Calidad y control microbiológico.

El aumento de las poblaciones sigue y seguirá provocando un incremento en la demanda de recursos, es decir, mayor consumo de agua, alimentos y diferentes productos, por ende estos recursos pueden llegar a constituir uno de los principales transmisores de enfermedades infecciosas. Por lo que es de suma importancia evitar la presencia de microorganismos perjudiciales en la salud del consumidor, esto lo podemos evitar si se lleva a cabo la implementación de controles que van desde el recibo de las materias primas hasta obtener los productos finales. Por lo que es de gran relevancia conocer bien los procesos de calidad que impulsen la mejora continua en la conservación de los diferentes productos manufacturados para el consumo humano (cuidado oral, cuidado personal y cuidado del hogar). Así mismo es, de gran importancia y muy necesario conocer la calidad microbiológica de los productos, los procesos de elaboración y las materias primas que se utilizan. (1,2)

La pérdida de la calidad de un producto puede ser debido a la presencia de microorganismos patógenos para la salud o de microorganismos que alteren el producto de tal manera que lo hagan inadecuado para el consumo.

El objetivo principal de los controles microbiológicos es garantizar al consumidor el abastecimiento de productos que al emplearlos sean salubres e inocuos y evitar así el deterioro de los mismos.

Aunque en los análisis microbiológicos se utilizan diversas técnicas para establecer la calidad microbiológica de un producto es necesario saber si las cantidades de los microorganismos presentes en un producto son normales o no, por lo que es necesario contar con normas y especificaciones microbiológicas ya establecidas. Algunos de los componentes de un análisis microbiológico son: (3)

Muestreo: Este se debe realizar de forma adecuada siguiendo protocolos establecidos. Las muestras tienen que ser representativas y significativas, por lo cual se llevan a cabo planes o programas de muestreo.

Interpretación de resultados: Para ello se debe contar con las especificaciones internas que maneje la empresa.

Método microbiológico: Se pueden emplear diversos métodos microbiológicos, eligiendo el más sensible para detectar lo que se quiere, de acuerdo a procedimientos internos de la empresa.

Por ende, se puede considerar que un producto de buena calidad es aquel que cubra los requisitos establecidos por el cliente, reúna las características expresadas por los consumidores, se acoja a la legislación vigente e incorpore a lo largo del tiempo todas las nuevas y cambiantes exigencias. (5)

Por tal motivo surge el término “Control Microbiológico” como un elemento de evaluación de la satisfacción de los requisitos microbiológicos que debe tener un producto, tanto desde el punto de vista sanitario como comercial. Por eso para alcanzar la calidad microbiológica es necesario aplicar pasos ordenados a través de la cadena de producción del producto.

El entorno profesional y de trabajo para el Q.F.B. se ejerce en empresas o laboratorios de distintos sectores donde sea preciso realizar ensayos y análisis, tal es el caso de la Industria Química, principalmente en Control de Calidad en el Laboratorio de Microbiología.

Durante mi desarrollo profesional dentro del Departamento de Control de Calidad del Laboratorio de Microbiología he tenido la oportunidad de aplicar los conocimientos adquiridos de la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, principalmente de las materias de Microbiología Farmacéutica, Desarrollo Analítico y el Paquete Terminal de Control de Calidad, gracias a los cuales, he podido llevar a cabo mi trabajo en los temas en los cuales me desarrollo diariamente.

Además de los conocimientos técnico-prácticos aportados por las distintas asignaturas que lleve durante mi carrera, adquirí la habilidad de trabajar en equipo, resolver problemas lo cual me ha ayudado mucho para desempeñarme multidisciplinariamente con los distintos profesionistas que

laboran dentro de esta empresa en las diferentes áreas y departamentos, lo que me ha permitido tener como fin común el de producir o elaborar productos de calidad a nuestro público consumidor y también aplicar conceptos, técnicas y habilidades para poder realizar día a día mi trabajo profesional.

Por tal razón, es de vital importancia que su personal debe estar siempre capacitado en todo lo que se realiza en el área. Gracias a esta constante capacitación, siempre estoy a la vanguardia en procedimientos, para así poder detectar los problemas en caso de que los productos no cumplan con los estándares y/o especificaciones de la calidad microbiológica.

De manera global, puedo decir que la formación recibida en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán ha sido clave y pieza fundamental dentro de mi desarrollo profesional. Por tal razón, en este documento trataré el.

2. Objetivo

2.1 Objetivo General.

Revisar las principales metodologías aplicada en los controles de calidad (equipos, agua, materia prima, ambiental) para cumplir con un Laboratorio de Microbiología.

2.2 Objetivos particulares:

- Describir en forma general los métodos o técnicas Microbiológicas empleadas en el análisis de productos cosméticos dentro de un laboratorio de Microbiología.

- Describir la importancia que tienen estas técnicas en los análisis que se realizan dentro de Laboratorio de Microbiología.

3. Aspectos Generales de mi Desempeño como recién Egresado de la Facultad.

Inicialmente empecé como Becario en el área de Investigación y Desarrollo, en el 2000 y ahí realice las siguientes actividades apoyando al Investigador de Shampoo:

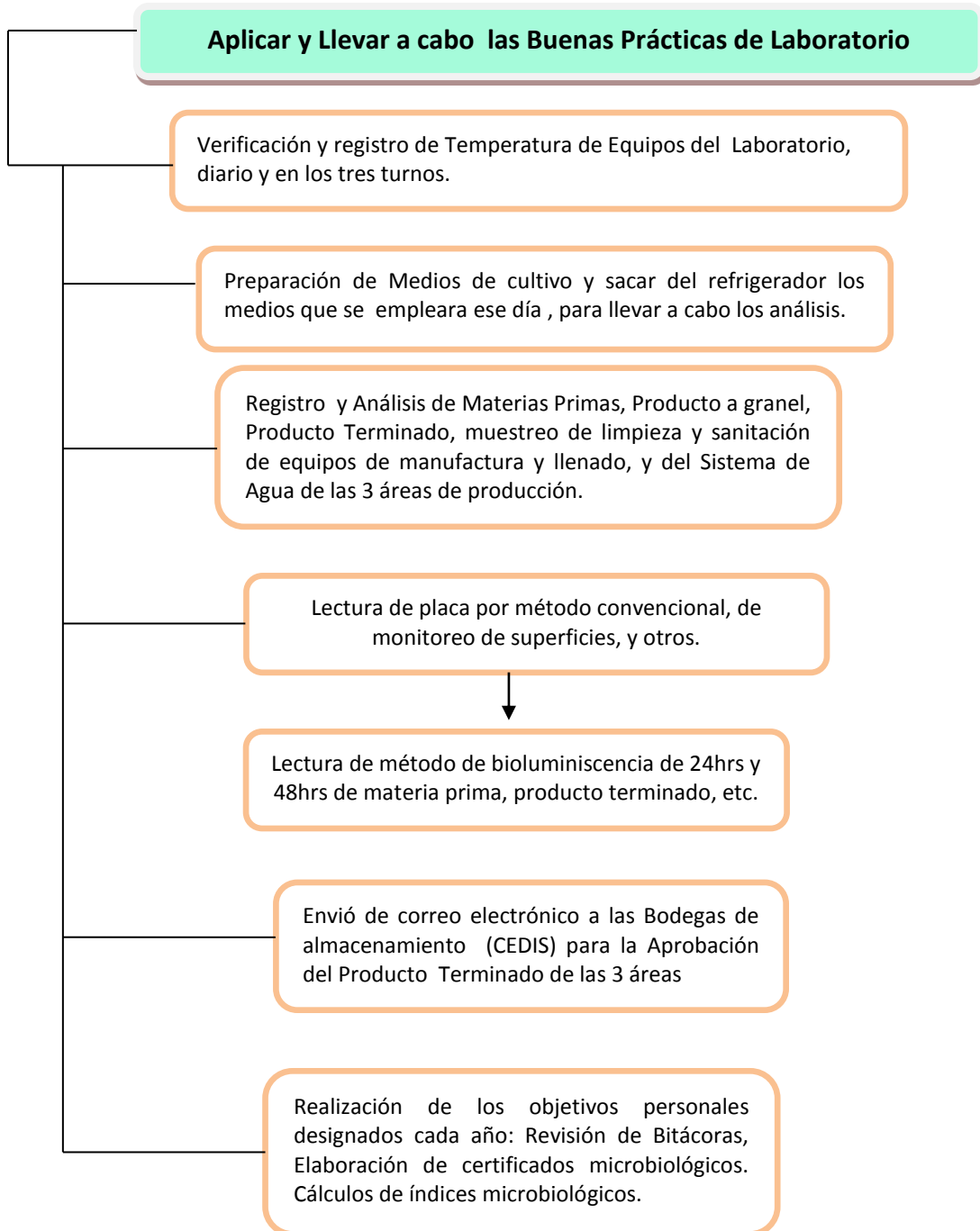
- ✓ Determinar parámetros físico-químicos: pH, viscosidad, densidad, olor y color.
- ✓ Prueba de estabilidad de las muestras añejadas a 5° C, Temperatura Ambiente, 43° C y Prueba al sol.
- ✓ Apoyo en hacer pequeños lotes en el laboratorio y a escalamiento.

Después tuve la oportunidad de ser parte de la Empresa al ser contratado como analista de Control de Proceso donde realice lo siguiente:

- ✓ Aprobación de materias primas para la elaboración de Jabones como :
 - Índice de Saponificación, Olor, Color, % de humedad, Espectrofotometría.
- ✓ Aprobaciones de gránulos de:
 - Producto de Higiene Personal (Cremas corporales, Brillantinas líquidas, sólidas y geles. Producto de Higiene Bucal (Determinación de Humedad, viscosidad, pH y gravedad específica).

A los 10 meses ingrese al área de Microbiología, donde laboro actualmente. Aquí he formado parte de este laboratorio desde el año 2001, desempeñando el puesto de analista de microbiología llevando a cabo las siguientes actividades, que a continuación se desglosan en el diagrama:

4.1 Diagrama de Flujo General de las actividades desempeñadas en un Laboratorio de Microbiología. (6)



5. Justificación

El aseguramiento y control de calidad son componentes vitales de la operación de un laboratorio. Sin el adecuado manejo de las técnicas de atención de estas áreas, la validez de los resultados microbiológicos puede cuestionarse y la confianza en el personal del laboratorio y más aún la credibilidad de toda una empresa puede verse seriamente perjudicada.

Debido a esto, la observación rigurosa de estos componentes individuales del sistema de aseguramiento de la calidad, conocidos genéricamente como "controles de calidad" es indispensable realizarlos meticulosamente en cualquier empresa de productos cosméticos que ofrezca productos de calidad.

Este trabajo intenta revisar las técnicas para los controles mínimos necesarios dentro de un laboratorio de microbiología y la importancia que tiene el Q.F.B., en este tipo de laboratorio principalmente en una industria de productos cosméticos.

6-. Control de Calidad de un Laboratorio de Microbiología

En muchas empresas manufactureras han comenzado un proceso de mejora a partir de estándares y sistemas de calidad definidos. Para proveer productos limpios y seguros al consumidor intervienen varios factores desde el inicio del Diseño de un Producto. Manufactura y el Análisis del mismo para comprobar que cumpla con los requisitos establecidos en las Normas Oficiales Mexicanas. Como último punto, el Aseguramiento y Control de Calidad son vitales en la operación correcta de un Laboratorio debido a que sin un sistema adecuado. La validez de los resultados analíticos y/o microbiológicos se puede ver seriamente cuestionada. Estos estándares y sistemas están basados en la estándares internos establecidos de los procesos y en la aplicación de metodologías para la mejora continua y que saben, que para permanecer en los mercados y garantizar una buena participación se debe tener presente, que la calidad microbiológica actualmente es muy importante tenerla bien controlada, porque ella involucra: (7,8)

- “Satisfacer plenamente las necesidades del cliente.”
- “Cumplir las expectativas del cliente y algunas más.”
- “Despertar nuevas necesidades del cliente.”
- “Diseñar, producir y entregar un producto de satisfacción total.”
- “Producir un artículo o servicio de acuerdo a las normas establecidas.”
- “Dar respuesta inmediata a las solicitudes de los clientes.”
- “Una categoría tendiente siempre a la excelencia.”

Como los microorganismos se encuentran presentes en todo nuestro entorno contribuyendo en diversos procesos importantes y en una constante interacción con las actividades que desarrollamos, servicios que utilizamos y productos que consumimos de manera benéfica pero de igual forma algunos de estos deben estar ausentes o en una concentración establecida de tal forma que el tipo de presencia sea inocua en el producto e inofensiva para el consumidor.

La presencia de microorganismos se encuentra latente en productos que a diario la población consume, en espera que estos productos cuenten con la calidad y seguridad para su empleo por parte del consumidor; se debe contar con un control eficiente en su manufactura que asegure la

calidad microbiológica de éstos. Los problemas microbiológicos en plantas de manufactura y en los productos terminados están relacionados directamente con la calidad microbiológica de las materias primas, condiciones de fabricación así como los cuidados en el llenado o acondicionado de productos relacionando el manejo de materiales, personal e instalaciones. (9,10)



Figura 1. Control Microbiológico.

Sin embargo, es de vital importancia emplear un control microbiológico, como se muestra en la figura 1, el cual nos ayuda a asegurar la calidad del producto terminado, permitiendo evidenciar algún crecimiento microbiano denotando el tipo y número de microorganismo presentes, por parte de las empresas dedicadas a la producción de este tipo de productos destinados a la población. En la actualidad la microbiología industrial es una herramienta clave en los procesos de producción ya que denota su importancia al concientizar, controlar e identificar la presencia de microorganismos en los productos finales. (11,12)

En el rubro de características microbiológicas los productos que si bien pretende sean estériles, si aseguren que los conservadores presentes en la formulación mantengan su vialidad previniendo la presencia de los microorganismo para lo cual es necesario evaluar la calidad microbiológica antes de liberar el producto para su distribución mediante técnicas específicas.

Ante esta necesidad las mayoría de las industrias han desarrollado metodologías para la evaluación de sus productos que está apoyada en técnicas microbiológicas y la evolución de las nuevas tecnologías que tiene como objetivo buscar, controlar, analizar y asegurar la conformidad microbiológica desde las materias primas requeridas en la formulación, granel antes de acondicionar y el producto final para ofrecer productos seguros y cumpliendo los lineamientos de regulaciones establecidos. (13,14)

Por lo tanto, un laboratorio de Microbiología debe poner en práctica una serie de acciones que le permitan asegurar una adecuada práctica en el aislamiento, identificación y caracterización de agentes etiológicos y su correspondiente prueba de susceptibilidad como una guía. Esto significa que deben ser controlados una serie de factores y eventos, tales como el monitoreo de medios de cultivo, reactivos, instrumentos, procedimientos y que se debe poner especial énfasis en la capacitación permanente del personal. (15)

Varios conceptos son convenientes de discutir y el primero de ellos es el control de calidad. En este caso, son las técnicas operativas, que facilitan la realización de un monitoreo diario de los procedimientos practicados en el laboratorio, lo que permite detectar errores en la ejecución de una técnica e identificar problemas que se presenten con los reactivos de uso diario o esporádico. Actualmente el control de calidad forma parte de un programa referente a esta temática. La calidad incluye calidad total, mejoramiento de la calidad y aseguramiento de la misma.

6.1. Elementos mínimos del Programa de Control de Calidad en Microbiología

El control de calidad en un laboratorio microbiológico, debe evaluar y documentar el desempeño de todos los aspectos de sus procedimientos. Esto incluye la calidad de la muestra a ser analizada, la eficiencia de los reactivos, los medios de cultivo, el funcionamiento de los diversos instrumentos o equipos y la verificación o validación de los resultados obtenidos. (16,17)

6.2 Instalaciones

El laboratorio de Microbiología es parte importante del servicio de control de calidad, junto con el laboratorio químico y el de control de procesos. Por lo que las actividades descritas se desarrollaron en el laboratorio de microbiología, el cual cuenta con ubicación diseño y distribución de las diferentes áreas esto es con la finalidad de minimizar el riesgo de contaminación de las muestras y los cultivos. (18,19)

El laboratorio de microbiología, como se muestra en la figura 2, requiere una serie de instalaciones especiales debido a la naturaleza misma de los análisis, dentro de las consideraciones para el diseño del laboratorio están las siguientes: (20,21)

- a) *Ubicación:*
- b) se localiza en un área separada del resto de las áreas incluyendo las manejadoras de aire.
- c) *Paredes, techos y pisos:* se utiliza material no poroso y de fácil limpieza, también deben permitir la instalación de equipos y muebles fijos.
- d) *Acabados:* Son sanitarios (uniones redondeadas, de techo-pared, pared-piso y terminados lisos sin interrupción) con la finalidad de evitar la acumulación de partículas viables y no viables y facilitar su limpieza.
- e) *Distribución:* el estudio de tiempos y movimientos es un apoyo para establecer el patrón de flujo en la distribución de las áreas del laboratorio, de tal forma que se reduzca al mínimo el riesgo de error, y permita una limpieza adecuada y mantenimiento del orden, a fin de evitar la contaminación cruzada, el polvo y la suciedad, que permita la seguridad y acceso controlado y, en general toda condición que pueda influir negativamente en la calidad de los análisis del laboratorio microbiológico. Se requiere contar con el espacio adecuado en cada tipo de análisis o actividad que se realiza en el laboratorio, esta consideración es muy importante ya que afecta la eficiencia de las operaciones y la supervisión. Las áreas que principalmente requiere el laboratorio de microbiología son:

- Exclusa de ingreso al laboratorio de microbiología
- Área de Lavado de material

- Área de Residuos Peligrosos
- Área de Preparación de Material y medios de cultivo
- Área de Incubadoras y refrigeración
- Área de Análisis de muestras
- Área de recepción de muestras

Por lo tanto, la finalidad del laboratorio de microbiología es proporcionar información sobre la presencia o ausencia de microorganismos patógenos, pero principalmente de implementar un control microbiológico para prevenir la contaminación de los productos que se elaboran en cualquier Industria. (22,23).

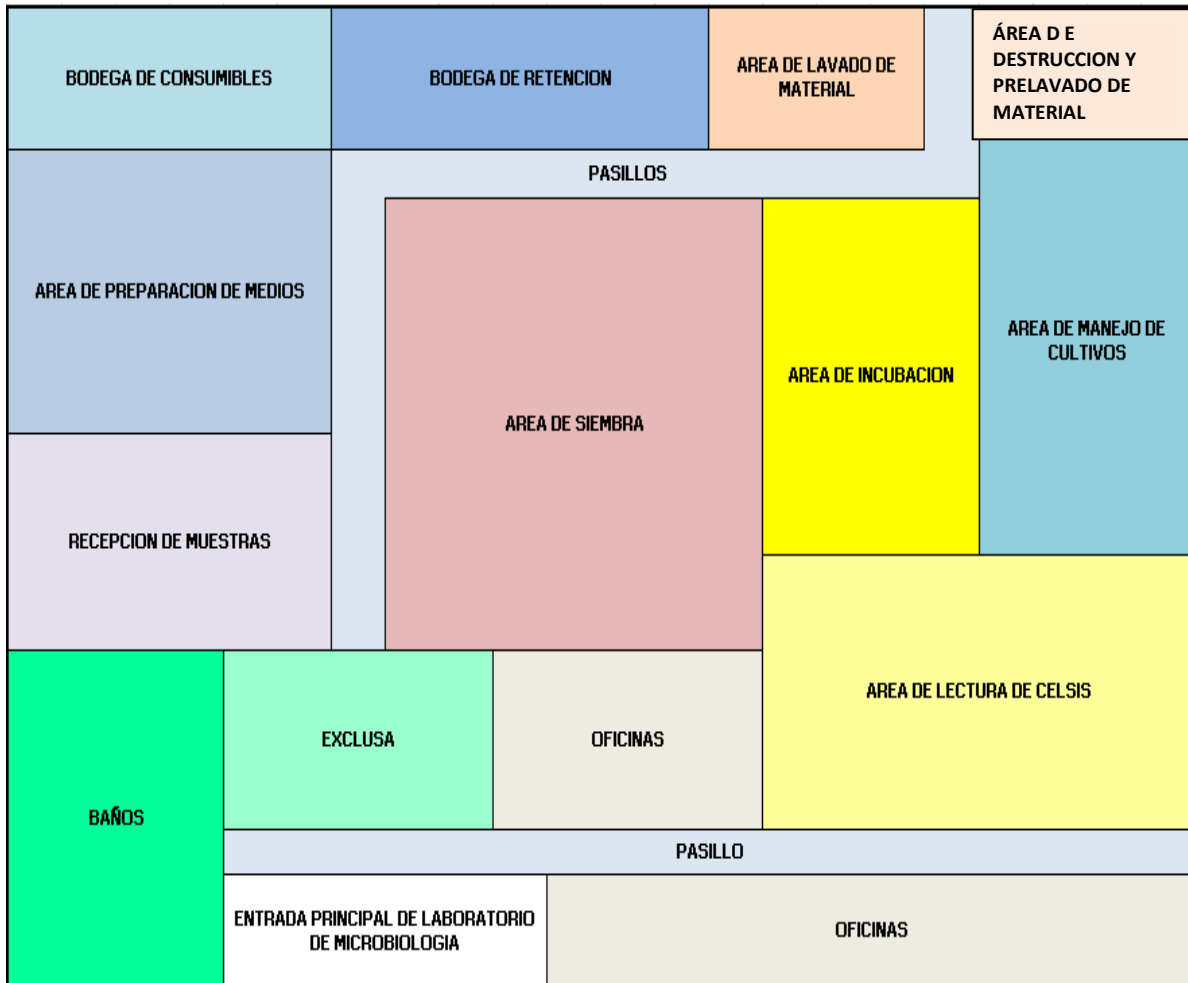


Figura 2. Áreas mínimas que conforman un Laboratorio de Microbiología.

6.3. Requisito de limpieza y desinfección del área de trabajo. (24,25)

Para documentar la limpieza y desinfección es necesario establecer un programa el cual debe de tomarse en cuenta que tenga los resultados de vigilancia de las condiciones ambientales y la posibilidad de contaminación cruzada. Los registros de las operaciones permiten corroborar el cumplimiento del plan establecido y se realiza en bitácoras.

Una de las principales áreas que sufre una mayor contaminación, es el área de trabajo, ya que puede ser que no esté bien realizada la limpieza y desinfección. El área de trabajo se lava con agua y jabón, se desinfecta o sanitizan con agentes germicidas, los cuales se emplean en forma alternada. También se debe checar la filtración de aire que entra, tanto al laboratorio como a las áreas asépticas. (26,27).

Estos procedimientos de limpieza y sanitización de las diferentes áreas del Laboratorio se emplean para disminuir la biocarga presente en el ambiente; de tal forma que se garantice una buena calidad microbiológica en las instalaciones y se evite contaminación de nuestros análisis generando resultados falsos positivos. Una limpieza y/o sanitización efectiva son esenciales para cumplir con las buenas prácticas de laboratorio así como para la contención de residuos biológicos



Figura 3. Limpieza y Desinfección del área.

Como se muestra en la figura 3, no se exigen ningún equipo o entrenamiento especial, solo el equipo necesario como son Cubetas, jaladores, trapeadores. Los métodos de limpieza y los materiales adecuados dependen de la naturaleza del producto o residuo.

6.4. Limpieza del material de vidrio. (28)

Otra fuente de contaminación es la mala limpieza del material a usar. Todo material de vidrio, plástico o acero inoxidable que sea reutilizable en el Laboratorio de Microbiología deber ser lavado y enjuagado después de haber sido descontaminado (El material contaminado primero se pasa por autoclave para esterilizarlo y posteriormente se lava como se indica al principio), la limpieza del material de vidrio debe hacerse con detergente, enjuagarse bien con agua de la llave y después enjuagarse con agua desmineralizada. Se colocan boca abajo en cesto especiales y el aclarado final se hace con agua destilada.

Aplica a todo el material, utensilios y contenedores de vidrio, plástico, metálicos, etc., para minimizar el riesgo de interferencia de cualquier tipo de residuo con los resultados de las pruebas microbiológicas realizadas. Es decir, la cristalería puede ser pre-tratada con una solución química antes de ser lavada con un detergente neutro, de uso general en el Laboratorio. Después del lavado los materiales antes mencionados, son enjuagados con agua desmineralizada, secados y almacenados y se usara un indicador en solución acuosa al 0.04% para indicarnos la presencia o ausencia de residuos químicos en dichos materiales. La finalidad de esta prueba principalmente es asegurar que la etapa de enjuague es suficiente después de emplear algún surfactante o solución o ácida para lavar los materiales; de esta forma se garantiza que no exista interferencia y/o inhibición del crecimiento bacteriano en las diversas pruebas microbiológicas realizadas. (29)

El propósito es comprobar la efectividad del lavado del material, para que posteriormente no afecte la calidad de los medios. Cuando se trabaja con lotes grandes de envases, se prueba $n + 1$, en dónde n es el número de unidades lavadas y escurridas.

Como se muestra en la figura 4, el material de vidrio son los más utilizados en el trabajo de laboratorio, y en la industria tienen cada día mayor aplicación. Las propiedades principales que debe poseer un vidrio utilizado en el laboratorio son la resistencia a los agentes químicos y la estabilidad térmica.



Figura 4: Material de vidrio.

En los procedimientos microbiológicos es frecuente el empleo de material de vidrio y dado que éste tiene una gran influencia en la calidad de los resultados microbiológicos, es muy importante tomar en cuenta su adecuada limpieza y esterilización, es decir, se debe prestar un especial cuidado a su preparación, como se muestra en el diagrama 1, nos indica los pasos mínimos a seguir para llevar a cabo la limpieza del material de vidrio y que a grosso modo se explica a continuación: (30,31)

- 1) El material "limpio" se enjuaga con agua destilada y se observa si las paredes se humectan en forma homogénea, de no ser así es porque contienen grasa y deberá

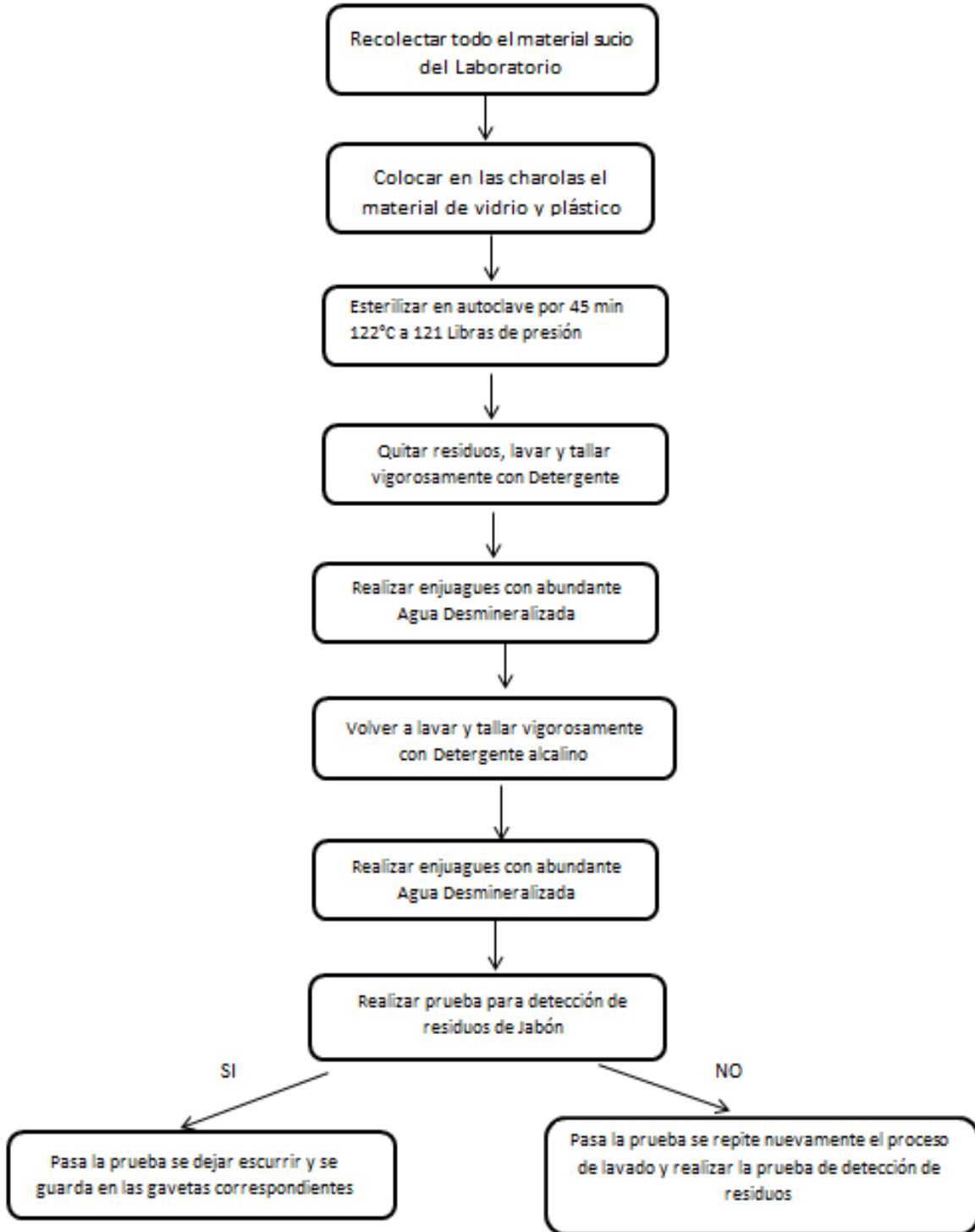
repetirse el lavado hasta que dicho material se encuentre en condiciones satisfactorias.

- 2) El indicador de pH que se emplea es el Azul de bromo- timol al 0.1%, pH 6.0 -7.6.
- 3) Si el material está bien lavado, al agregar una gota del indicador adecuado para verificar que el pH, si está cercano a la neutralidad se comprueba la ausencia de restos ácidos o alcalinos

Por eso es de gran importancia llevar a cabo adecuadamente y siguiendo procedimientos la limpieza del material de vidrio del laboratorio. Ya que una adecuada limpieza del material de laboratorio, evita el que no se tengan problemas de contaminación, obtención de datos erróneos, originar accidentes, ya que puede contaminar muestras y reactivos.

Diagrama 1. Pasos para el Lavado de Material

LAVADO DE MATERIAL DE VIDRIO



6.5 Esterilización. (32, 33, 34)

En microbiología, la esterilización implica la eliminación o destrucción de todo organismo vivo. Como se tiene un control sanitario estricto, el tipo de esterilización dependerá del material y equipo utilizado. La esterilización por calor húmedo es la más eficaz, ya que con temperaturas bajas, se asegura la esterilización. Se requieren 80 kcal para elevar la temperatura del agua de 20°C a 100°C. Este método es el más empleado, en su forma de vapor a presión (Autoclaveado), con una exposición durante 15 minutos a 121°C. Con este tratamiento mueren las células vegetativas y las endósporas bacterianas. Sin embargo, los medios que contienen hidratos decarbono, deben esterilizarse a temperaturas no superiores a los 116-118°C, para evitar su descomposición y la posible formación de compuestos tóxicos que inhiban el crecimiento bacteriano.

Como se muestra en la figura 5, la autoclave es el aparato más comúnmente utilizado en los laboratorios para esterilizar cultivos y soluciones que no formen emulsiones con el agua y que no se desnaturalicen a temperaturas mayores a 100 °C.



**Figura 5: Autoclave médico / de vapor / vertical / con puerta corredera
AMSCO C 16**

6.6 Prueba empleadas para medios de cultivos.

Los medios de cultivo son analizados en cuanto a características como pH, esterilidad y promoción de crecimiento. Se espera que el medio cumpla con las características estipuladas por las casas comerciales o proveedores y además que tenga la habilidad de soportar crecimiento en ausencia del material de prueba con una cantidad de organismos viables entre 10-100 UFC (Unidades formadoras de colonia) que es lo sugerido por la ATCC (American Type Culture Collection). Para esto se prepara una suspensión que contenga entre 10 y 100 UFC, se inoculan los medios de cultivo y se procede a incubar de acuerdo con temperaturas y tiempos establecidos por las Procedimientos internos de la empresa. (35, 36)

Tiene por objetivo determinar las especificaciones mínimas que deben tener los medios de cultivo para microorganismos es general. Esta norma es obligatoria en todas las industrias, laboratorios y establecimientos dedicados al proceso de estos productos en el territorio nacional. Un medio de cultivo es un material nutritivo en que se pueden recuperar, multiplicar y aislar los microorganismos, se clasifican en: líquidos, semisólidos y sólidos, como se muestra en la figura 6. (37,38)



Figura 6. Clasificación de los medios de cultivo

Para entender de qué se trata la prueba que se le realizan a los medios de cultivo, es necesario tener en cuenta que existen diferentes medios de cultivo y los cuales son: (39,40)

- a) **Medios de pre enriquecimiento:** son medios líquidos encargados de activar o despertar todas las bacterias presentes sin importar cuál sea.
- b) **Medios de enriquecimiento:** son medios líquidos que favorecen el crecimiento de un tipo de microorganismo, conteniendo un compuesto inhibidor del crecimiento de los microorganismos que no se quieren cultivar.
- c) **Medios selectivos:** son medios sólidos, que contienen cualidades específicas para el aislamiento de microorganismos específicos.
- d) **Medios diferenciales:** son medios que contienen sustancias que sirven como sustrato para algún tipo de bacterias indicando una reacción específica para un tipo de microorganismos.

Todos contribuyen en conjunto para identificar la presencia de una forma viviente presente en algún producto, granel, materia prima etcétera.

6.6.1. Prueba de Esterilidad: (41,42)

Garantiza la esterilidad del medio de cultivo. Se toma el 4% de tubos y placas de cada lote de medio de cultivo y se incuban a $30 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$ y a $22.5 \pm 2.0^{\circ}\text{C}$, la prueba se realiza en 5 días tanto para bacterias como para los hongos. Si no hay turbidez, o presencia de colonias el medio está estéril y pasa la prueba para su uso. Se recomienda que al realizarla la prueba de esterilidad y evitar una contaminación accidental, esta debe llevarse a cabo en condiciones asépticas por lo que periódicamente se realizará el control ambiental de las áreas de trabajo, así como del equipo y material empleados.

6.6.2 Prueba de promoción de crecimiento:(43)

Garantiza la calidad nutritiva del medio de cultivo. A una muestra representativa de cada lote de medio estéril, inocular una suspensión que contengan entre 10 UFC/mL a 100 UFC/mL de cepas que refiere el procedimiento interno. La prueba es satisfactoria si durante un período de incubación de 5 días a la temperatura indicada se presenta crecimiento evidente del microorganismo.

6.6.3. Toma de pH:(44,45)

La concentración de iones hidrógeno es muy importante para el crecimiento de los microorganismos. La mayoría de ellos se desarrollan mejor en medios con un pH neutro, aunque los hay que requieren medios más o menos ácidos. No se debe olvidar que la presencia de ácidos o bases en cantidades que no impiden el crecimiento bacteriano pueden sin embargo inhibirlo o incluso alterar sus procesos metabólicos normales. Por tal razón se debe medir el pH del medio preparado para verificar si quedo en el rango establecido por el proveedor. Es esencial, esta única comprobación podría ser suficiente, siempre y cuando el proceso de esterilización esté bajo control.

Durante la preparación de los medios de cultivo, se registrará el número de lote del polvo deshidratado y/o sus componentes, así como la fecha de preparación y el pH final después de la esterilización. Asimismo, se conservarán los datos del proceso de esterilización para cada lote de medio preparado.

6.7. Buenas Prácticas de Laboratorio de Microbiología.(46,47)

La preocupación por obtener resultados confiables, debido a que se encontró que varios estudios de laboratorio se realizaron bajo prácticas no aceptables, determinó la creación de programas de acreditación de laboratorios, regulaciones, sistemas de aseguramiento de calidad, con el propósito de generar resultados confiables que permitan obtener productos de calidad.

6.7.1 Equipos e instrumentos.

En el Laboratorio todos los equipos e instrumentos a emplear deben de cumplir algunos puntos que se deben ser considerados:

- Que los equipos e instrumentos cumplan con las especificaciones establecidas de acuerdo a los Procedimientos internos de la Empresa.
- La capacidad para contener las pruebas a realizar.
- Que sean fáciles de limpiar y dar mantenimiento.

Los Procedimientos Normalizados de Operación para el control de inventarios, identificación, mantenimiento preventivo, de operación y control de uso, limpieza, calibración, programa de

calibración y mantenimiento, son parte fundamental de las Buenas Prácticas de Laboratorio ya que para llevar un control adecuado de los equipos e instrumentos, se emplean para realizar los registros de las actividades llevadas a cabo, en donde se indica la fecha, hora, analista, muestra analizada, análisis de referencia y observaciones (donde aplique). Siempre que sea posible, los equipos defectuosos deben ser eliminados del laboratorio, o identificados claramente como tales.

Los equipos e instrumentos de laboratorio, deben ser calificados cuando son instalados y antes de ser usados con el fin de que el riesgo de error y contaminación sea mínimo.

La calificación de equipos no es un único proceso continuo, sino el resultado de varias actividades diferenciadas, las cuales se las agrupa en 4 fases (1). Por ello es importante finalizar la fase anterior antes de pasar a la siguiente. Las cuatro fases son: Calificación de Diseño (DQ), Calificación de Instalación (IQ), Calificación de Operación (OQ) y Calificación de Desempeño (PQ). (48,49, 50)

Para cumplir con las recomendaciones y regulaciones de la Secretaría de Salud, es necesario calificar los equipos utilizados en los diferentes procesos térmicos de las áreas productivas de la empresa y validar su desempeño, para ello, la Calificación y Validación de los equipos utilizados para tales propósitos son como los que se muestran en la figura 7:



Autoclave



baño María



Incubadora

Figura7. Algunos equipos que requieren calificación y validación en un laboratorio de Microbiología.

6.7.2. Calificación de Diseño (DQ) (51,52)

Antes de comenzar la calificación de diseño, el usuario debe definir las especificaciones funcionales y Operacionales del equipo y los criterios para la selección del proveedor. En base a los requerimientos del usuario”, el fabricante podrá diseñar el equipo. La calificación de diseño (DQ) puede ser realizada no sólo por el que desarrolla o fabrica el instrumento, sino también por el usuario. Por lo general el fabricante es responsable del diseño robusto y de mantener la información que describe como está fabricado y probado el equipo analítico, antes de ser entregado a los usuarios, normalmente este control del equipo en fábrica, es presenciado por el usuario.

Por lo tanto la precalificación también es un aspecto importante en el programa de calificación de un equipo, es considerado la base de un proyecto, durante la precalificación varias disciplinas participan en la evaluación para la selección del equipo basándose en los requerimientos regulatorios, de proceso y financieros preestablecidos.

Toda la información generada durante esta primera fase debe estar documentada mediante un protocolo el cual contiene la información sobre los participantes del proyecto, del proveedor, del diseño del equipo y de las expectativas de los parámetros de operación del equipo. Todo debe ser documentado antes de que se adquiera el equipo. Con la información que contiene el estudio de precalificación se puede determinar que protocolos son necesarios desarrollar para la calificación de éste.

6.7.3 Calificación de Instalación (IQ). (53,54)

La calificación de instalación, es un proceso de documentación de la forma de cómo fueron instalados los componentes físicos y de los requerimientos de servicios de un sistema, los cuales pueden afectar los atributos de calidad o especificaciones del proceso.

La calificación de instalación requiere esfuerzos coordinados del proveedor/ fabricante, departamento de validaciones, del usuario principalmente, que proporcionan información importante de cómo fue realizada la compra, requerimientos de instalación, operación y de mantenimiento del equipo. Además, el departamento de Ingeniería de la planta, es generalmente el responsable de establecer un área de trabajo adecuada en la instalación del equipo, debe considerar

aspectos como: espacio requerido para la instalación tomando en cuenta espacio necesario para darle mantenimiento al equipo, espacio de operación, espacio para la conexión de los servicios; requerimientos de construcción y acabados; requerimientos de capacidades de servicios. Además de que debe verificar que los planos, diagramas eléctricos, manuales, listan de refacciones sean correctos.

6.7.4 Calificación de Operación (OQ). (55,56)

La calificación de operación de los equipos es un conjunto de pruebas para evaluar el sistema y poder realizar el arranque de éste. En este proceso se ajustan controles y se verifican que operen de acuerdo a las especificaciones de diseño, y a su vez se asegura que con las especificaciones predeterminadas se obtengan resultados de análisis confiables.

6.7.5 Calificación de Desempeño (OP). (57,58)

Una vez concluida la calificación de operación se realiza la calificación de desempeño (OP) del equipo, la cual involucra la validación de la técnica de análisis aplicando la nueva tecnología. El protocolo debe describir el Procedimiento Normalizado de Operación para el uso del equipo, la limpieza, el mantenimiento, los materiales y las muestras que se requerirán para ejecutar la técnica de análisis, el equipo y los programas de cómputo empleados para ensayos, calibración y muestreo, deberán ser capaces de alcanzar la exactitud requerida .

Una vez que las pruebas han concluido satisfactoriamente, el equipo debe ser aprobado para su uso mediante la aprobación del protocolo de calificación y del Procedimiento Normalizado de Operación que indique claramente los parámetros de operación, limpieza y mantenimiento. En la tabla 1, nos da un resumen general de cada etapa al adquirir un equipo nuevo.

Calificación de Diseño	Calificación de Instalación	Calificación de Operación	Calificación de Desempeño
<i>Momento de aplicabilidad</i>			
Antes de la adquisición de un nuevo modelo de equipo.	Durante la instalación de cada equipo, sea nuevo o existente sin calificar.	Después de la instalación o reparación importante del equipo.	Periódicamente a intervalos especificados para cada instrumento.
<i>Actividades</i>			
En general se realiza conjuntamente con el fabricante, ya que antes de la DQ es necesario tener los requerimientos del usuario para que el fabricante pueda diseñar el equipo.	Descripción.	Verificación de parámetros fijos.	Establecimiento de pautas para el mantenimiento preventivo y reparaciones. Establecimiento de prácticas de operación, calibración, mantenimiento y control de cambios.
	Entrega del equipo. Montaje e instalación de los servicios necesarios. Verificación del entorno. Red y almacenamiento de datos.	Verificación de almacenamiento de datos, copia de seguridad y archivo seguros.	
Es necesaria la garantía de disponibilidad de soporte adecuado por parte del fabricante o del representante.	Verificación de la instalación del equipo.	Pruebas de las funciones del equipo.	Controles de desempeño

Tabla 1: Tiempo de ejecución, aplicabilidad y actividades para cada fase de la calificación de equipos

7. Actividades periódicas como analista de microbiología (59,60)

Tomando como punto de partida, el Químico Farmacéutico Biólogo que estapresenta en el área de control químico debe conocer y aplicar las buenas prácticasde laboratorio (BPL o GLP), esto con la finalidad de asegurar la calidad e integridad de los productos. Con la implementación de las buenas prácticas delaboratorio se garantiza la trazabilidad de los resultados obtenidos dentro del mismo. Por lo que todo análisis microbiológico que se realiza dentro del laboratorio se debe de hacer siguiendo métodos microbiológicos previamente validados, los resultados que se generan deben ser registrados y comprobados de tal manera, que exista una trazabilidad y además todas las pruebas que se realizan en laboratorio deben de llevar un registro, en donde se incluyen los siguientes puntos:

1. Hacer referencia a todos los procedimientos de análisis.
2. Reportar los resultados obtenidos
3. Firma del analista quien realizó el análisis
4. Firma del analista que verificó el análisis,

5. Y un dictamen de aprobado o rechazado o cualquier decisión que se tome con respecto al resultado obtenido por el responsable del área.

8. Metodología Microbiológica empleada como controles de calidad en un laboratorio de Microbiología. (61,62)

La pérdida de calidad de un producto, es causada o puede ser debida a la presencia de microorganismos patógenos o de microorganismos que alteran el producto de tal manera que lo hagan inadecuado para el consumo. De ahí surge la necesidad de que todas las industrias conozcan la calidad microbiológica de sus productos, a nivel de las materias primas que usan, que conozcan la calidad de todos los procesos de elaboración y por supuesto la calidad del producto final.

Por eso la importancia de establecer un programa de control de calidad adecuado a los riesgos microbiológicos de un producto y de lo cual se deben tener en cuenta tanto sus propiedades intrínsecas, como la calidad de las materias primas, el proceso, las condiciones de fabricación y el uso final del producto, las cuales suelen ser críticas.

A continuación se muestra que tipo de Control Microbiológico de calidad y tipo de análisis se realizan a las diferentes muestras que llegan al laboratorio de microbiología y en las cuales el Químico Farmacéutico Biólogo se encuentra involucrado.

8.1. Control y Análisis microbiológico de Materia Prima, Producto Terminado, Producto a Granel

Los productos no estériles son susceptibles de contaminarse con microorganismos tales como bacterias, mohos y levaduras durante el proceso de manufactura: pesada, fabricación, llenado, almacenamiento, así como durante su uso, como se muestra en la Figura 8.

La contaminación de los productos no estériles, puede tener el potencial de reducir o inactivar la actividad del principio activo y por ende representar un riesgo para la salud del consumidor, adicionalmente la presencia de estos microorganismos dependiendo de su patogenicidad puede ocasionar infecciones o enfermedades que afecten al consumidor.

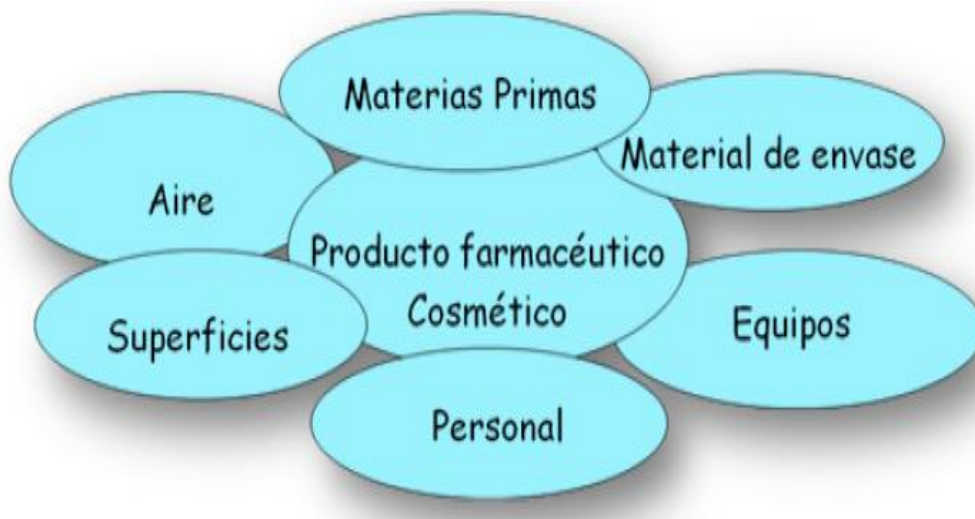


Figura 8: Fuentes de contaminación más frecuentes de productos de uso y consumo humano.

Por otra parte, el deterioro microbiano podría conllevar cambios en las características físicas y químicas que conducirían a que el producto deteriorado no sea apto para ser usado, afectando con ello la imagen de la Empresa productora. Es por ello, que las materias primas y los productos terminados no estériles, deben ser sometidos a un análisis microbiológico que demuestre que cumplen con las especificaciones establecidas por los organismos oficiales e internos, para garantizar que los productos son adecuados para el uso al que están destinados. La detección de dichos errores, su rápida corrección y prevención en el futuro, son el principal objetivo de cualquier sistema de control microbiológico. Por lo que en el Laboratorio de Microbiología emplea las siguientes técnicas. (63,64).

8.1.1 Métodos o técnicas tradicionales del análisis microbiológico. (65)

En Microbiología, el fundamento de la detección de microorganismos por métodos clásicos de análisis es de dos tipos:

- Detección y recuento de microorganismos individuales.
- Detección de presencia/ausencia.

La mayoría de los métodos microbiológicos están diseñados para detectar o enumerar, tipos específicos de microorganismos que denominaremos microorganismos diana. Los otros

microorganismos que pueden estar presentes en la muestra, no deben de ser detectados ni deben de interferir en el proceso analítico, estos son los microorganismos no diana o también llamados interferentes, micro-biota competitiva o micro-biota de fondo. A continuación se describen algunos de los métodos más usados. (66,67)

De acuerdo a la técnica empleada para el recuento, su resultado expresará el número de microorganismos totales (viables más no viables) o solamente viables presentes en una muestra, siendo éstos últimos los que poseen la capacidad de crecer y multiplicarse.

a) *Recuento por siembra en superficie:*

A partir de la dilución madre se hacen las diferentes diluciones seriadas, de ellas se toma una parte y se añade a la placa que tiene el medio de cultivo sólido y con un asa se extiende la siembra por la superficie de la placa y después de incubada se hace el recuento. Las ventajas son que permite ver la morfología, color y textura de las colonias y además, es el mejor método para el crecimiento de aerobios estrictos, la desventaja es que lleva más tiempo, hay que usar el asa de Drigalski que hay que esterilizar y además sólo permite sembrar volúmenes muy pequeños (hasta 0.1 ml) .

b) *Recuento por siembra en inclusión:*

Se siembra en placas Petri vacías y a continuación se añade el medio de cultivo fluido todavía y con movimientos circulares ligeros se homogeniza. Por lo que los microorganismos crecen dentro del agar una vez solidificado, como se muestra en la figura 9.

a) *Recuento por filtración de membrana:*

Un volumen conocido se filtra a través de una membrana estéril de 0.22 micras, con lo que las bacterias quedan retenidas en el filtro y después es el filtro el que se coloca sobre el medio de cultivo y se incuba. Para facilitar la filtración, cuando el volumen de muestra es muy pequeño, esta se disuelve en un volumen indeterminado de una solución estéril. Este volumen no influye en el recuento porque está estéril, y se está filtrando toda la muestra, por lo que sólo se recuenta lo que creció en 1 ml de muestra.

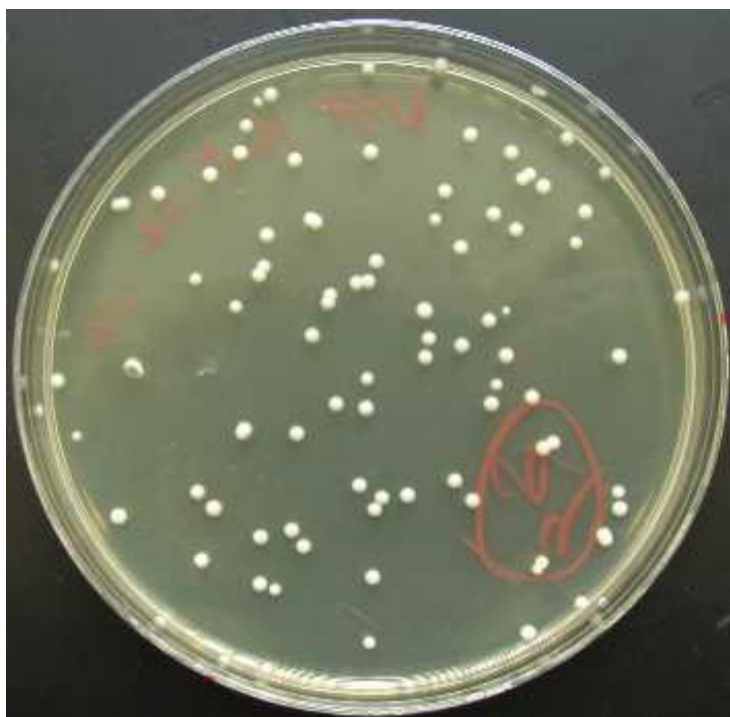


Figura 9: Crecimiento de microorganismo.

Esta técnica, es la más empleada actualmente por varias empresas ya que nos permite evaluar los productos que se elaboran (Cuidado Oral, Cuidado Personal y Cuidado del Hogar) y las materias primas que se reciben. Esta técnica se emplea para realizar y determinar la cuenta total en placa e investigar los microorganismos Gram negativos (ya que las especificaciones no permiten ningún Gram negativo), los cuales se incuban por 4 y/o 5 días para la emisión de los resultados.

Además se hace al mismo tiempo tanto para la cuenta bacteriana como para hongos y a su vez paralelamente se inicia la prueba de enriquecimiento para determinar si la cuenta es debida a Gram negativos o positivos. En el diagrama 2 se da una breve explicación de cómo se realizan las técnicas que a continuación se describen: (68, 69)

d) Técnicas de recuento en placa:

Es el mejor método para determinar células vivas. Se realiza sembrando un determinado volumen de la muestra sobre placas con medio de cultivo, el cual debe permitir el crecimiento o de una gran cantidad de microorganismos o sólo de los que nos interesan. Se basa en la hipótesis de que todas

las células formarán una colonia y que todas las colonias surgen de una sola célula (aunque no va a ser así exactamente). Dentro de los medios de cultivo tenemos: medios selectivos, medios enriquecidos y medios diferenciales.

En general, todos los medios de cultivo son selectivos, porque no permiten el crecimiento de todos los microorganismos. Antes de hacer las siembras hay que hacer las diluciones seriadas. A partir de cada dilución hay que hacer una siembra y una vez que está incubado, se escoge para contar aquella placa que nos dé un contaje entre 30 y 300 colonias para indicarnos de qué dilución procede.

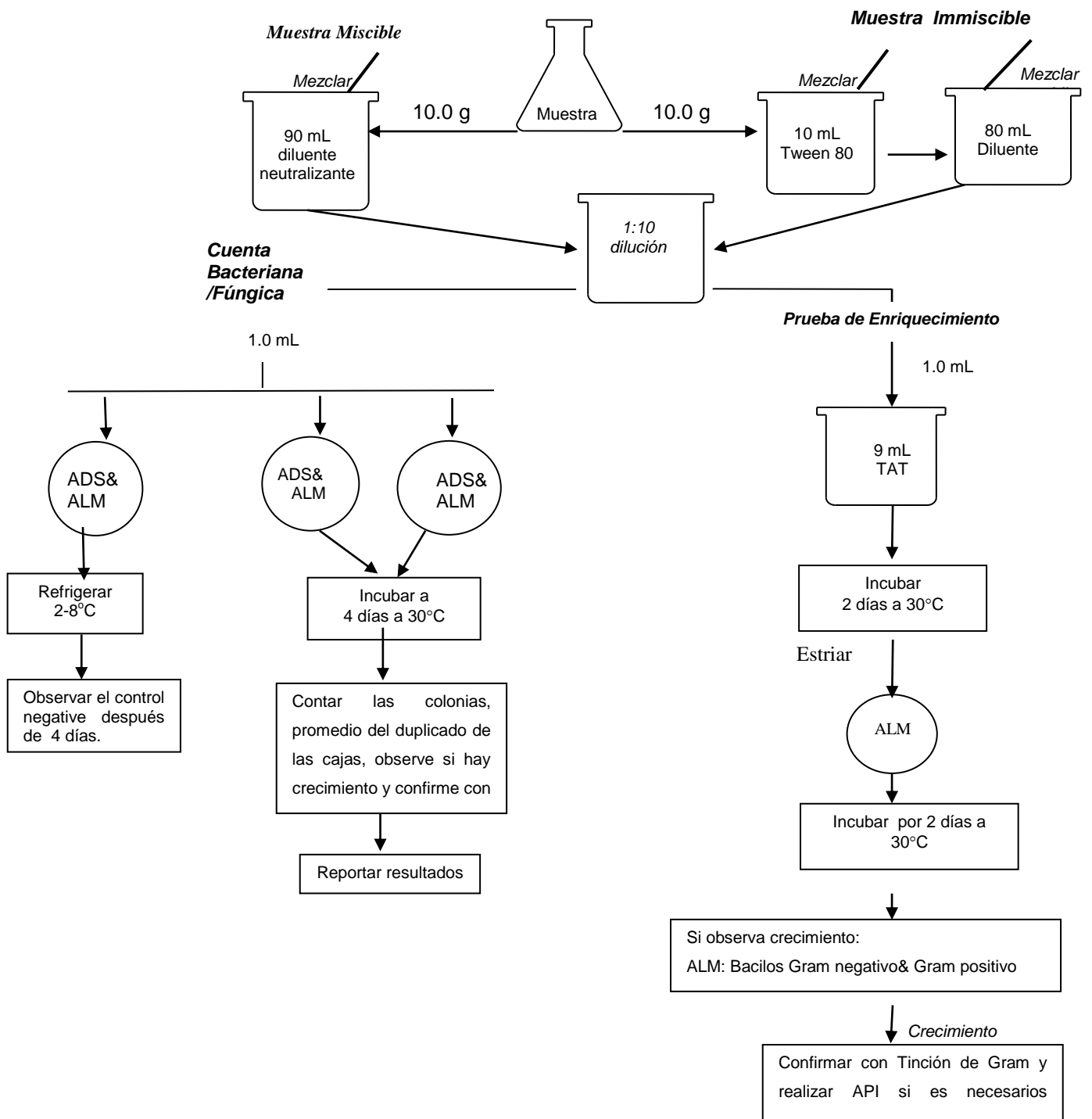
e) Para la cuenta bacteriana y la de hongos:

El primer paso es hacer una dilución original 1:10 de productos miscibles o inmiscibles con un diluyente neutralizante, es decir, se pesan 10g de la muestra a analizar en 90mL del diluyente empleado, se homogeniza y se toman alícuotas de 1ml, las cuales se inoculan en 2 cajas petri que son para bacterias y 2 para la cuenta en hongo/levaduras. De ahí las placas para la cuenta bacteriana se le adiciona el Agar Nutritivo, el cual se incuban durante 4 días a 30°C +/- 2°C y para cuenta de hongos/levaduras, es similar sólo que se incuba durante 4 días a con 22.5°C +/- 2°C y se emplea el Agar Dextrosa Saboraud.

Además, al mismo tiempo se inicia la prueba de enriquecimiento a la cual se coloca 1.0 ml de la dilución original en 9ml de diluyente neutralizante se incuba 2 días a 30°C y se estría sobre agar Nutritivo, se incuba a 30°C durante 2 días, si presenta crecimiento se realiza la técnica de tinción de Gram, para determinar si son bacilos positivos y/o negativos.

A los 4 días de incubación se revisan las placas de la cuenta bacteria como la de hongos/levaduras si no hay desarrollo se Aprueba el producto y/o materia prima. En caso de haber crecimiento, el producto y/o materia prima continuarán en el área de cuarentena.

Diagrama 2: Técnica de Método en Recuento en Placa en Materias Primas, Producto Terminado y/o Granel



8.1.2 Técnica Rápida (Bioluminiscencia). (70)

Existe otro método rápido que se emplea en la industria de productos cosméticos consiste en la reacción llamada de "Luciferin -Luciferasa" ó llamada Bioluminiscencia, la cual es una tecnología basada en la detección del ATP (Adenosin Trifosfato), molécula energética de todos los organismos vivos, es decir, El ATP es el compuesto que almacena la energía en todas las células vivas, es de procedencia microbiana.

Esta reacción se realiza con el complejo enzimático luciferin-luciferasa que convierte la energía química del ATP (microbiano y no microbiano) en luz a través de una reacción de óxido-reducción. La reacción bioluminiscente catalizada por la luciferasa utiliza la energía química contenida en la molécula de ATP para producir la descarboxilización oxidativa de la luciferina a oxiluciferina, dando como resultado la producción de luz. La cantidad de luz emitida es proporcional a los niveles de microorganismos y/o materia orgánica presente en la muestra que se pretende evaluar. La luz emitida es posteriormente cuantificada usando un equipo denominado luminómetro, que expresa el resultado medido en unidades relativas de luz (URL).

Esta técnica se emplea para productos que emplean diferentes medios de cultivos líquidos (caldos). Este es un método cualitativo, el cual nos ayuda a la detección rápida de microorganismo en el producto terminado y/o materia prima, o bioluminiscencia de ATP. Si el producto o materia prima ha sido validado para la liberación utilizándola prueba llamada Celsis: un resultado negativo indica que el producto o materia prima cumple con las especificaciones internas establecidas por la Empresa, y así puede ser liberada la producción y estar disponible al comercio. Además para realizar este tipo de técnica se emplea el equipo **Celsis Advanced**, como se muestra en la figura 10.

Por otro lado, un resultado positivo indica que más de una prueba es necesaria para determinar si el producto o materia prima pueden ser liberados. Los resultados positivos se confirman por volver aprobar el producto mediante la repetición del ensayo de bioluminiscencia por triplicado. Si ninguna de las muestras por triplicado es positivas se libera el producto, y si alguno de los tres el resultado de Celsis es positivo, se emplea el método de recuento en placa para la liberación posterior.

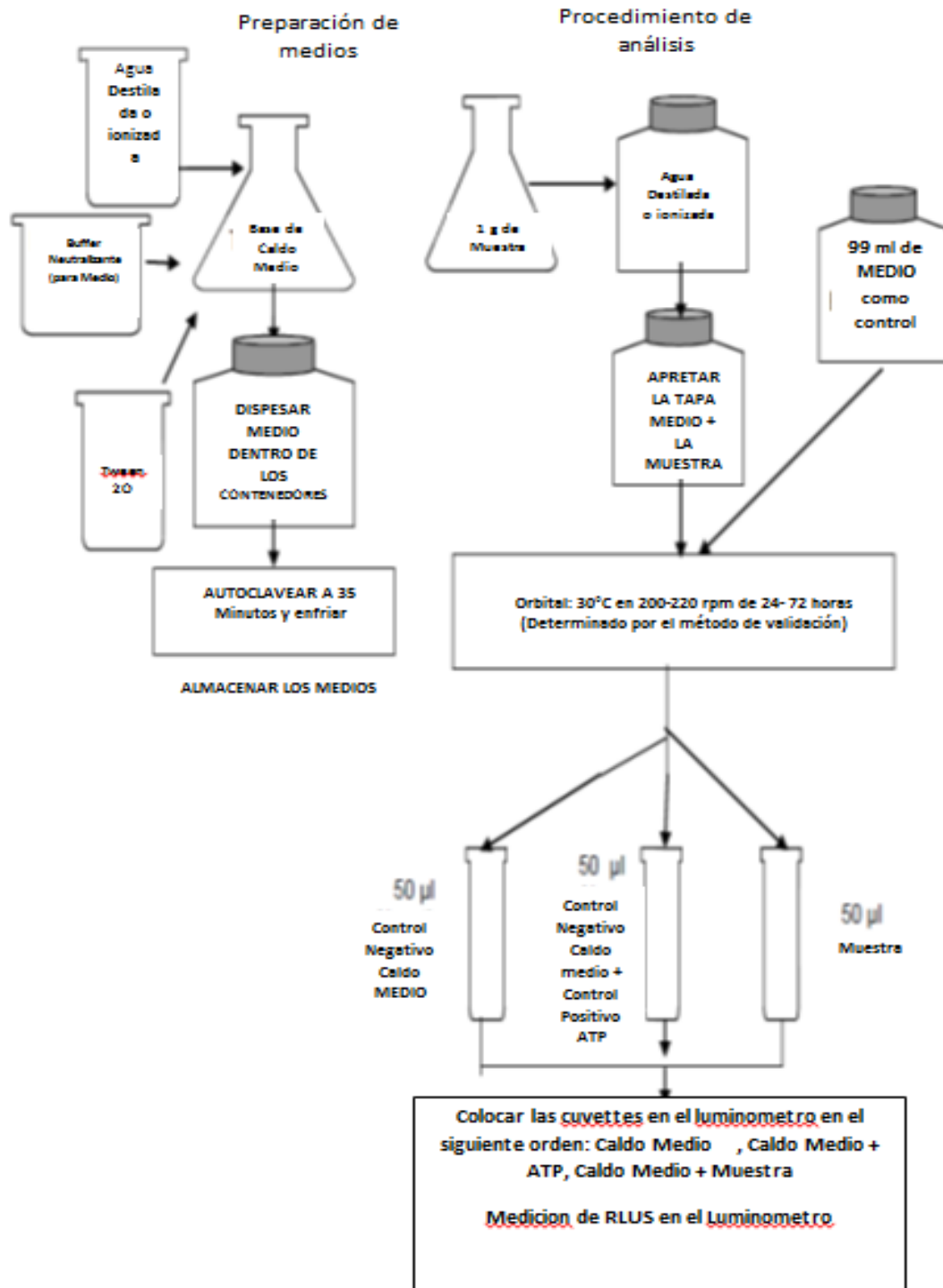
Sin embargo, este método, es el muy utilizado en las diferentes Empresas, ya que es muy sensible y podemos obtener resultados de la prueba en un mínimo de 24 horas y máximo 48 horas.



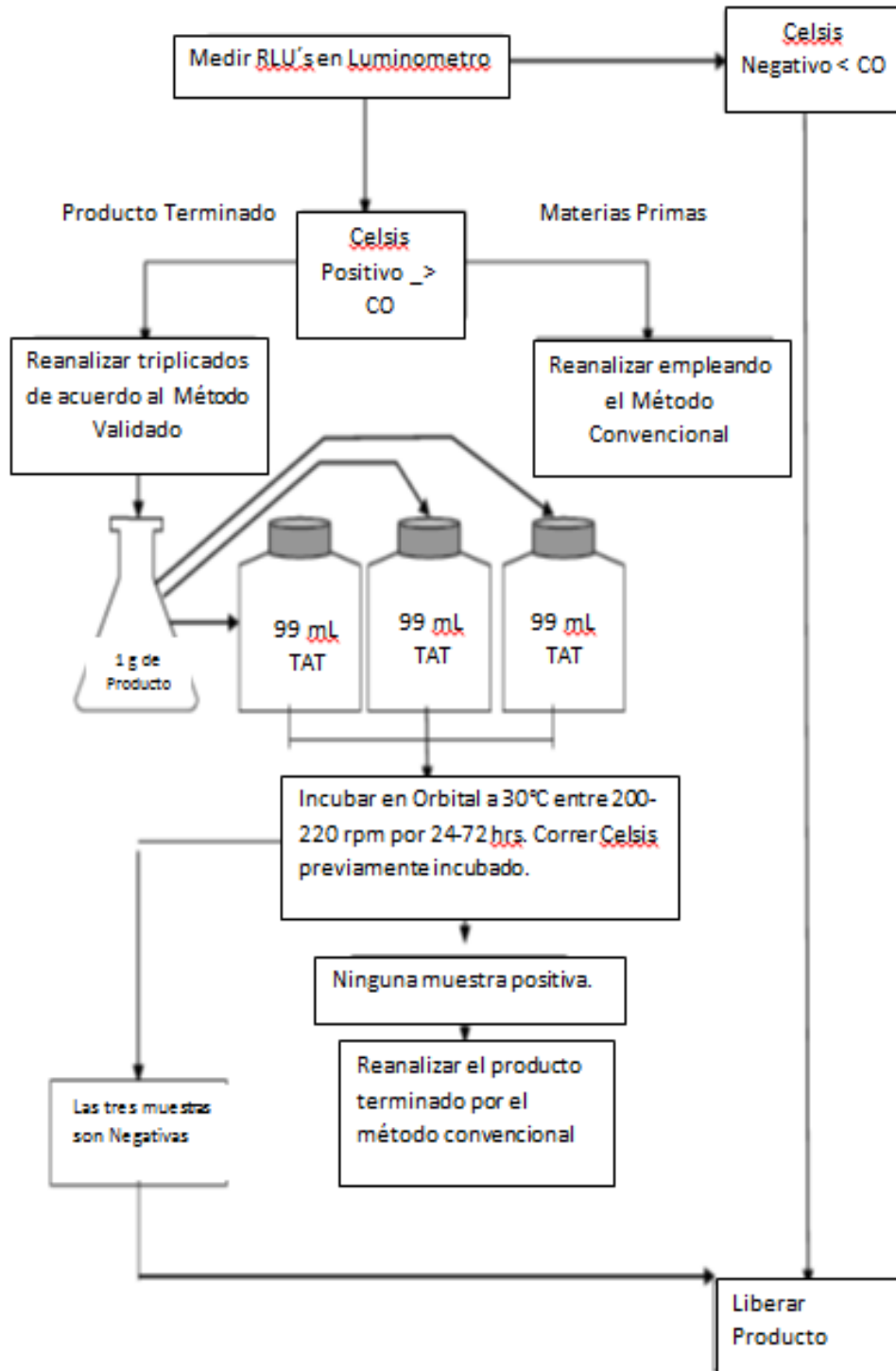
Figura 10 Equipo Celsis Advanced

En el diagrama 3, nos indica los pasos que se llevan a cabo para realizar esta técnica, que por lo general se emplea en las grandes empresas.

Diagrama 3: Método Rápido por Bioluminiscencia.



Continuación Diagrama 3: Procedimiento de la prueba



8.2. Monitoreo Ambiental (71,72)

8.2.1. Introducción.

El control microbiológico ambiental es indispensable en la cualquier industria más que nada para asegurar la calidad de los productos elaborados. Además, no sólo se requiere para la elaboración de productos estériles, sino también para los productos no estériles, donde la contaminación microbiológica puede afectar seriamente la calidad de los productos. Algunos microorganismos pueden ser patógenos, mientras que en ciertos casos la contaminación puede producir una disminución del principio activo o un deterioro en las características físicas del producto.

Las empresas están comprometidas en elaborar productos con calidad microbiológica requerida, por este motivo es crítico e indiscutible que cualquier empresa, en este rubro, siga las normas de las buenas prácticas de fabricación para establecimientos de la industria químico-farmacéutica dedicados a la fabricación de consumo humano, por lo que nos regimos por la NOM-059-SSA1-2004.

Por ende, los productos fabricados en esta empresa, son susceptibles a contaminación microbiológica por diferentes vías, entre ellas podemos citar: aire, agua, personal, equipo, limpieza ineficiente en los equipos empleados para su fabricación, etc. Por lo tanto, la presencia y crecimiento de microorganismos en los diferentes productos puede ocasionar riesgos importantes para la salud o alterar las características farmacológicas del mismo, siendo inimaginables las consecuencias que esto puede ocasionar. Por esta razón, todas las zonas de fabricación: almacén de materia prima, producto terminado, laboratorios, acondicionado y envasado (a las cuales les llamamos áreas limpias) deben de mantenerse en condiciones específicas de higiene, libres de polvo y microorganismos.

Para llevar a cabo el monitoreo ambiental, deben establecerse límites de alerta y de acción apropiados. Estos límites deben ser determinados teniendo en consideración que el objetivo principal es detectar condiciones que se alejen del comportamiento habitual del ambiente productivo.

La finalidad del monitoreo ambiental de las áreas limpias, desde el punto de vista microbiológico, es proveer información sobre la calidad ambiental y cantidad de partículas viables que presenta la planta en superficies, aire y personal (que principalmente ingresa a las diferentes áreas), generando

simultáneamente datos de tendencia e identificación de microorganismos que puedan estar presentes en las diferentes áreas a evaluar, con los cuales en determinado momento se puedan tomar acciones correctivas y preventivas cuando se generen resultados fuera de especificación, es decir por arriba de los límites de acción y o alerta. Los monitoreos ambientales evidencian la presencia o ausencia de contaminación microbiológica, como se muestra en la figura 11, con la cual los productos fueron elaborados y acondicionados para su comercialización y puedan ser adquiridos con confianza al cliente.



Figura 11: Muestreo de Aire Ambiental

Para llevar a cabo su ejecución deben seguirse estrictamente los procedimientos normalizados de operación, los cuales nos indican:

- a) Material empleado.
- b) Medios de cultivo.
- c) Identificación de las muestras según los puntos de muestreo.
- d) Puntos de muestreo.
- e) Frecuencias de muestreo.
- f) Tiempos de exposición.
- g) Tiempos y temperaturas de incubación de las muestras.
- h) Documentos para realizar los registros generados.
- i) Determinación de las cuentas microbianas.
- j) Proceso de identificación de género y especie de los microorganismos aislados.

- k) Generación de resultados.
- l) Reportes e interpretación de resultados.
- m) Graficas de tendencias ambientales.

Los puntos de muestreo son designados dependiendo de la calidad del aire y de las superficies que se pretende evaluar, por lo que existen áreas con óptima calidad, como lo son las áreas que cuentan con filtros especiales destinados a retener el 99.95 % de la biocarga existente en el ambiente y un programa de sanitización constante. No así, en áreas donde no es necesario el uso de estos sistemas, ya que se fabrican diferentes productos, en su formulación no necesitan de un estricto control ambiental.

Esta evaluación incluye:

a) Personal

El personal debe ser evaluado por medio de hisopo en diversos puntos críticos como es el uniforme y diferentes puntos de las manos, realizándose con una frecuencia que demuestre que el individuo que ingrese a estas áreas esté no sea o es una fuente potencial de contaminación directa que comprometa los procesos.

b) Monitoreo de la calidad ambiental de las diferentes áreas

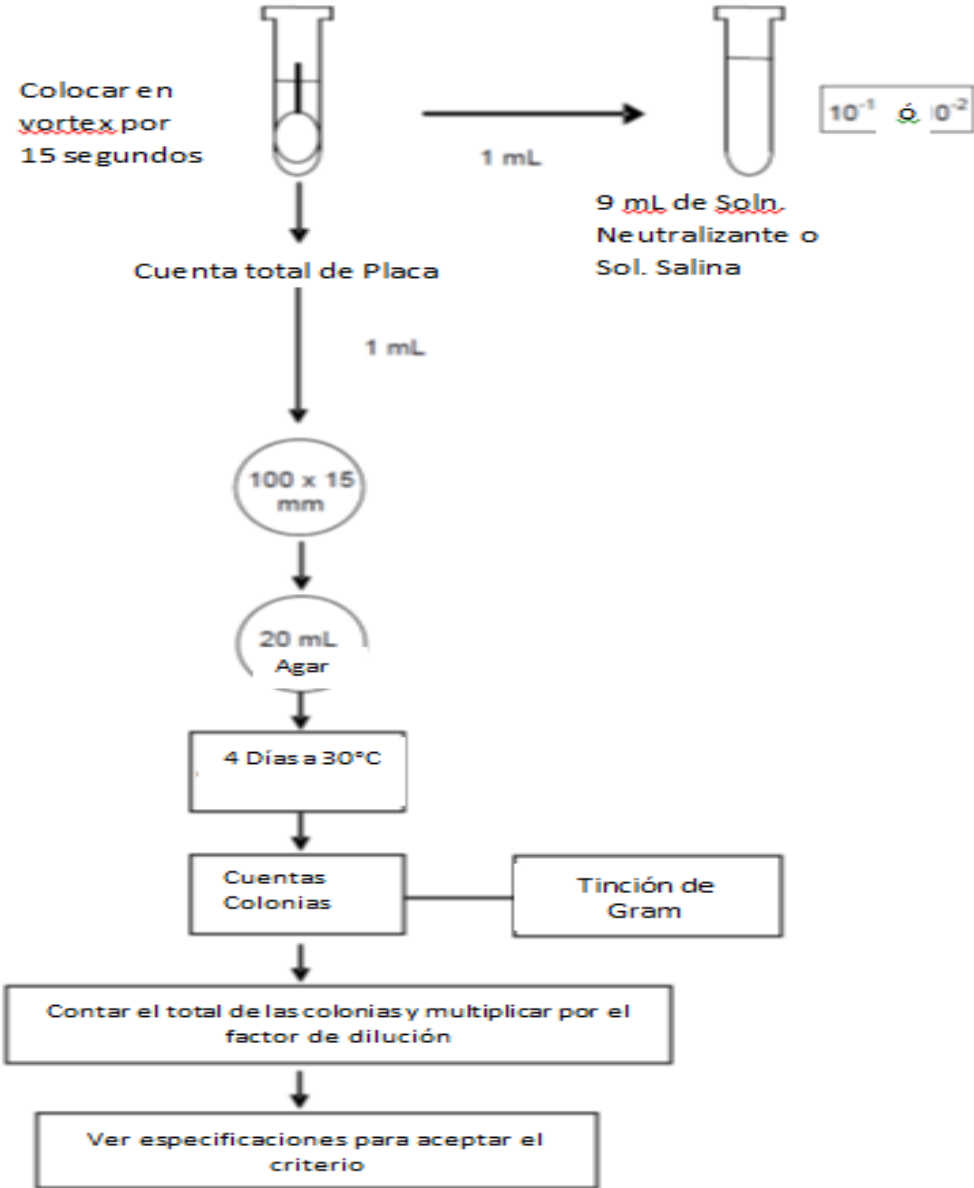
Esta exposición se realiza usando el equipo llamado SAS, como se muestra en la figura 12, por un periodo de tiempo determinado y contienen medio de enriquecimiento. El monitoreo se realiza en ausencia o presencia de personal y de actividad para corroborar la calidad ambiental que existe dentro de las instalaciones, por lo que la calidad ambiental de áreas con carga microbiana habitual depende de la actividad (limpieza, sanitización, fabricación y/o llenado del producto) ayuda a tomar acciones correctivas, y preventivas cuando se presenten microorganismos objetables en el ambiente.

c) Superficies

Las superficies tanto expuestas como ocultas forman parte de la evaluación completa del ambiente y deben ser evaluadas por placas de contacto en diversos puntos críticos y aseguran la integridad aséptica del área. En la evaluación de la calidad microbiológica de las superficies se emplean el

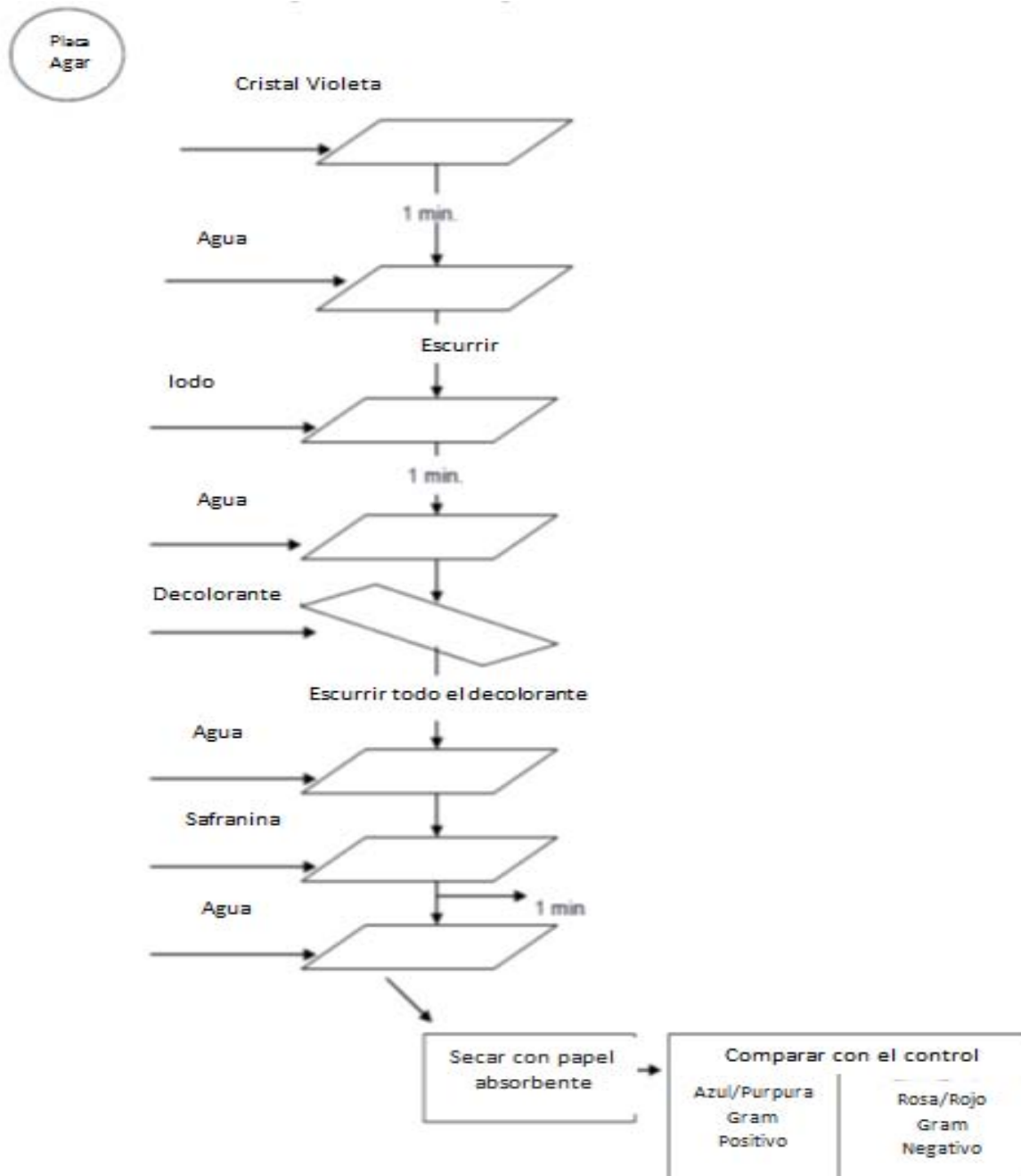
método con hisopo y el de placa de contacto (Rodac). El método de hisopado, es el más empleado y económico para la mayoría de las empresas, y el cual utiliza un hisopo humedecido, el cual se frota en tres direcciones sobre un área predeterminada, luego se coloca en un diluyente para liberar los microorganismos presentes y de allí se toma una alícuota y se siembra en un medio sólido. Este método se utiliza para superficies irregulares o de difícil acceso. En el diagrama 4 nos muestra los pasos de la técnica a realizar.

Diagrama 4: Pasos a seguir en la técnica de muestreo de Superficies:



En el diagrama 4 nos indica que debemos de realizar una tinción de gram La tinción de Gram es una técnica de laboratorio que permite identificar distintos tipos de bacterias según se coloree su superficie, además nos permite la rápida evaluación de morfología y complejidad bacteriana• Esta explicación de cómo llevarla a cabo se indica en el Diagrama 5.

Diagrama 5: Pasos para realizar la Técnica de Tinción.



d) Aire comprimido

Los gases como el nitrógeno y el aire comprimido que son utilizados en los procesos de presurización o modificación de atmósferas de productos farmacéuticos, mantenidos en tanques de almacenamiento y redes de distribución, deben ser evaluados con una frecuencia tal que garantice que el gas o el aire utilizado no comprometa la calidad microbiológica del producto. Esta evaluación se realiza con auto-muestreadores y medio de enriquecimiento que capturan la biocarga que pudiera existir en un volumen determinado, como se ve en el figura 13.



Figura 12: Muestreador Ambiental y de Compresión SAS – (Surface Air Sistem)

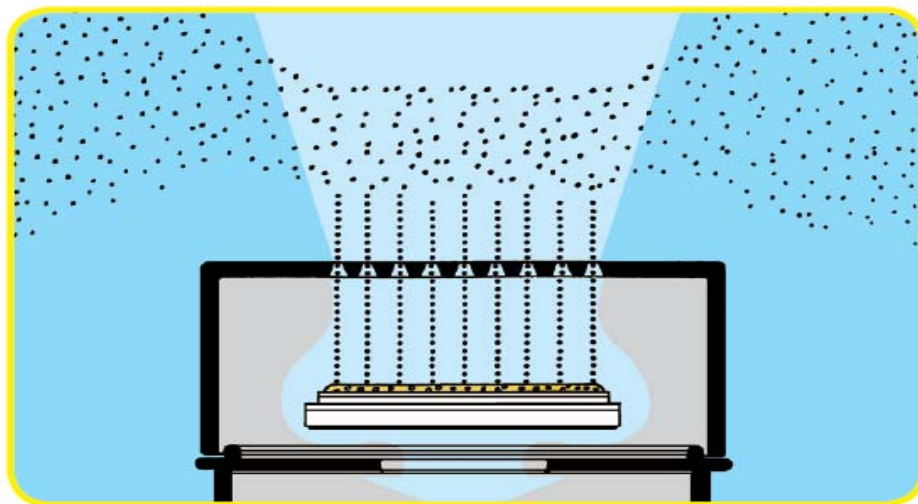


Figura 13: Ejemplo de muestreo de aire

Una vez definidos los puntos de evaluación por validación del área, se proceda la preparación de los materiales. Estos deben ser medios de cultivo que cumplan pruebas de promoción de

crecimiento y esterilidad, lo cual garantiza la generación de resultados confiables y no una contaminación cruzada en las áreas de muestreo. El ingreso a área no estériles, se realiza siguiendo procedimientos normalizados de acceso. En estos sitios se requiere el uso de una vestimenta que cumpla con los lineamientos de seguridad (casco, lentes de seguridad, faja, etc.) y uniformes destinados al uso exclusivo del personal. Una vez establecida la frecuencia y el tiempo de exposición se procede a colocar el material de muestreo en los puntos establecidos previamente. Al término de la exposición se retiran las muestras y se someten a las temperaturas y tiempos indicados de incubación para determinación de cuenta de bacterias y hongos. Finalizando estos periodos, se determina la cuenta total de microorganismos presentes en cada punto de muestreo, evaluando los resultados obtenidos contra las especificaciones, así mismo realizamos la identificación de género y especie de los microorganismos presentes. Simultáneamente se descargan los datos en los reportes y se realiza un análisis de tendencia.

8.3. Monitoreo de Sistema de Agua.(73,74)

La finalidad de los monitoreos microbiológicos en los sistemas de agua de tratamiento, Suavizada y Desmineralizada, es proveer información acerca de la calidad de los procesos de tratamiento y de desmineralización que se utilizan para obtener los diferentes grados de agua para la elaboración de productos producidos, como se muestra en la figura 14. Estos monitoreos microbiológicos nos indican los microorganismos presentes en el suministro del agua y si existe un proceso eficaz de purificación.

Además, provee los datos necesarios que garantizan la ausencia de microorganismos patógenos; los cuales pueden ocasionar una contaminación en las redes de suministro y que estos alcancen a llegar a los centros de recolección para la elaboración de los productos. A la par, se van generando resultados de tendencia e identificación de microorganismos presentes, con los cuales en un determinado momento se tomen acciones correctivas y preventivas cuando se generen resultados fuera de especificación.



Figura 14: Punto de Muestreo de Agua en la Planta.

Para realizar la toma de muestras debe iniciar con aquella que sea destinada a un análisis microbiológico, de preferencia en una bolsa estéril con cierre hermético. El agua donde se realice la toma de muestra debe de provenir directamente del sistema de distribución, sin dejar de considerar que si ésta proviene de un grifo o una válvula no deberá tener fugas ni fisuras, esto para evitar una contaminación en la muestra. En caso de contar con un algún aditamento externo, una manguera, filtros de plástico, boquillas o hule, remuévalos previamente. Como se muestra en la figura 15.



Figura 15: Ejemplo de Muestreo de Agua.

Dependiendo del grado de purificación del agua es la especificación de presencia o ausencia de microorganismos permisibles, por lo cual los análisis microbiológicos del sistema de agua se pueden realizar mediante el siguiente método:

8.3.1. Método de Filtración por membrana

El método de filtración por membrana permite determinar: cuenta total microbiana, presencia y/o ausencia de coliformes y presencia o ausencia de diferentes especies de *Pseudomonas*. Existen medios de cultivos específicos, capaces de permitir el desarrollo microbiano y diferenciar por características morfológicas y fisiológicas los microorganismos de interés. Uno de los sistemas más importantes para la identificación de microorganismos es observar su crecimiento en medios preparados en el laboratorio.

La metodología consiste en colocar el embudo que contiene la membrana filtrante estéril de tamaño de poro especificado en la técnica en la unidad de filtración en una bomba de vacío para filtración (figura 16 y figura 17). Mediante el cual se hace pasar un volumen previamente determinado de agua (100mL), muestreada por la membrana filtrante y las bacterias serán retenidos en la superficie de dicha membrana.



Figura 15. Bomba de vacío para Filtración Milliflex.



Figura 16: Material Empleado en la filtración de Agua

Se retira el embudo filtrante y se coloca sobre el cassette que contiene el medio de cultivo (R2A y AMC), el cual permitirá el crecimiento de microorganismos objetables y patógenos. Posteriormente se procede a un periodo de incubación establecido. Después de la incubación se desarrollarán colonias sobre la membrana filtrante en cualquier lugar donde hayan quedado bacterias atrapadas durante el proceso de filtración.

Esta técnica tiene muchas aplicaciones útiles, entre las cuales:

1. Se pueden examinar grandes volúmenes de agua; casi cualquier volumen se puede filtrar a través del embudo y los microorganismos en general quedarán en él, en el diagrama 5 nos indica los pasos generales de la cuenta total de filtración del agua.
2. Se logran estimaciones cuantitativas de ciertos tipos de bacterias, como coliformes, cuando se usan los medios apropiados, en el diagrama 5 nos indica los pasos generales para coliformes de filtración del agua.

Diagrama 5: Técnica de Filtración de Agua para Cuenta Total.

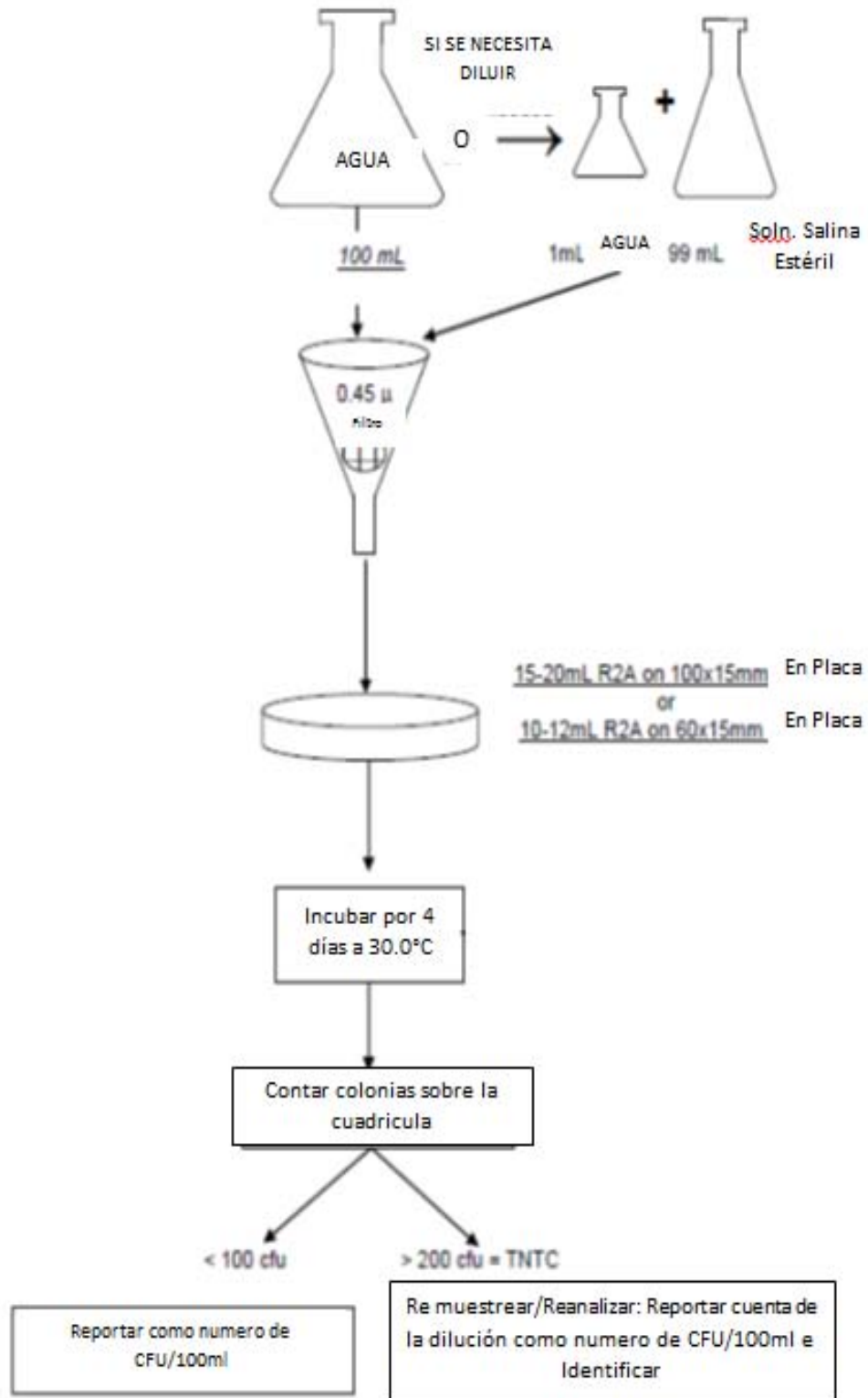
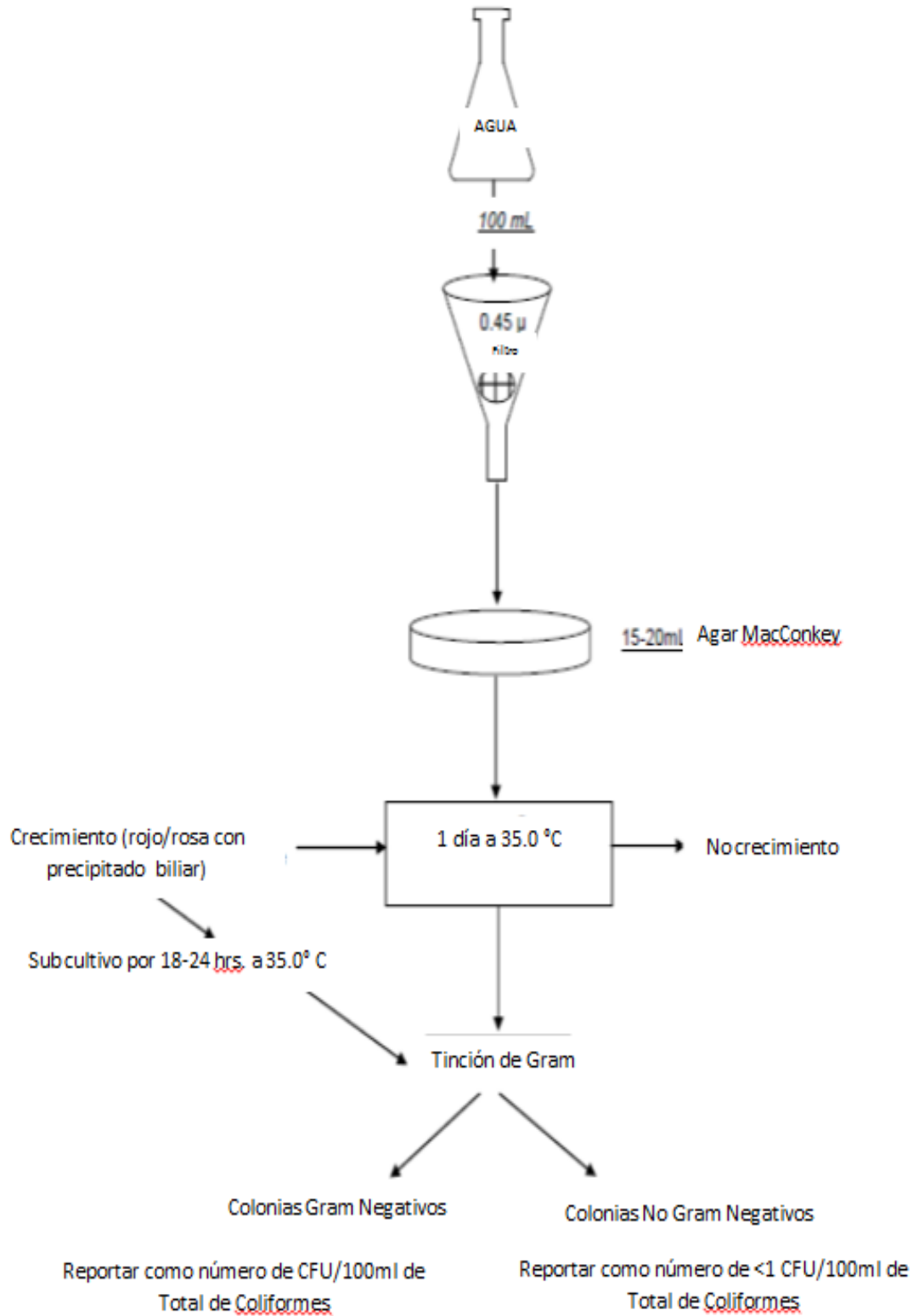


Diagrama 6: Técnica de Filtración de Agua para Coliformes



9. Análisis de Resultados.

Durante mi desarrollo profesional dentro del Departamento de Control de Calidad del Laboratorio de Microbiología, he tenido la oportunidad de aplicar los conocimientos adquiridos durante los nueve semestres que curse la carrera de Químico Farmacéutico Biólogo en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, principalmente de las materias de Productos Naturales, Análisis de Medicamentos, Tecnología Farmacéutica I, Microbiología Farmacéutica y del Paquete Terminal de Cosmetología, gracias a los cuales, he podido llevar a cabo mi trabajo con un amplio dominio de los temas en los cuales me desarrollo diariamente. Además de los conocimientos técnico-científicos aportados por las distintas materias del plan de estudios adquirí la habilidad de trabajar en equipo, que me ha ayudado mucho para desempeñarme multidisciplinariamente con los distintos profesionistas, gente sindicalizada, etc., que laboran dentro de esta empresa, con el fin común de ofrecer productos de la más alta calidad a nuestro público consumidor. De igual modo, el tener relación con el personal de Producción me ha ayudado mucho a aplicar conceptos y técnicas de producción que aprendí durante la licenciatura, aunque yo no me ocupé de ello en la empresa, tengo que saber los procedimientos para detectar las fallas en caso de que los productos no presenten los estándares de calidad.

Por lo que en el presente trabajo se describió una serie de actividades realizadas por el sustentante con el propósito de dar a conocer algunas de las técnicas microbiológicas empleadas y requeridas por el área de control de calidad para la evaluación de los diferentes productos que comercializan, con lo cual es de gran importancia hacer un análisis que el control de calidad microbiológico requiere de:

1. Seguir las Buenas Prácticas de Laboratorio en cada paso de los análisis, esto incluye la documentación y el registro al momento de su ejecución, así como las buenas prácticas en Seguridad dentro del Laboratorio.
2. Evaluar constantemente los ambientes en los cuales se llevan a cabo la manufactura, proceso fabricación, llenado y acondicionamiento de los productos, así como de áreas de análisis, laboratorios y personal que en ellos labore.

3. Llevar a cabo monitoreos de los sistemas de agua, especialmente la que es utilizada para la fabricación de los diferentes productos que elaboran las diferentes Empresas, ya que esta posee un mayor impacto durante todo el proceso de elaboración de los diferentes productos; dadas sus características y sus estrictas especificaciones.
4. Cuantificar y determinar la biota microbiana y microorganismos objetables en los productos por la técnica de bioluminiscencia y/o cuenta total aeróbica, la cuales un pilar en la aprobación o rechazo de un lote de producto.
5. Demostrar la esterilidad de los productos por medios de filtración y/o inoculación directa en medios específicos, demostrando la presencia o ausencia de contaminantes.
6. Obtener evidencia documentada de las pruebas de validación que demuestren que son reproducibles, confiables y sólidas; lo cual se reporta bajo el concepto de técnicas validadas.
7. Una capacitación oportuna del personal tanto en la realización de las pruebas como en las buenas prácticas de laboratorio minimiza los riesgos y garantiza la obtención de resultados confiables.
8. Un mantenimiento preventivo y correctivo de los equipos utilizados en el laboratorio, garantiza seguridad en el procedimiento de la prueba.
9. Para que los resultados de las pruebas microbiológicas tengan validez, es necesario demostrar que los medios de cultivo empleados, contienen los nutrientes necesarios para inducir el crecimiento de los microorganismos.
10. Es preciso controlar todos los factores extrínsecos que puedan afectar la veracidad de las pruebas especialmente, la temperatura, aireación y la asepsia operacional, ya que estos influyen de manera determinante en la manifestación de falsos positivos en los resultados de las pruebas.

11. Por último, el empleo de controles microbiológicos positivos dentro de las pruebas corrobora la efectividad y sensibilidad de las técnicas.

De hecho es importante remarcar que se debe capacitar en Buenas Prácticas de Laboratorio, procedimientos, regulación internas y externas que estén vigentes al personal del laboratorio de microbiología ya que es esencial para asegurar el cumplimiento con los requisitos regulatorios , además permite mantener una fuerza laboral motivada y capacitada.

10.- Recomendaciones

Como químico farmacéutico biólogo egresado de la FESC-1 puedo decir que la preparación que recibimos en la facultad a lo largo de la carrera nos permite enfrentarnos a los problemas reales que exigen la industria farmacéutica, y esta preparación depende en gran parte de nosotros y del interés que se les haya dado a los académicos de la facultad.

Como aprendices tenemos la obligación de aprender a escuchar para que en un futuro podamos participar en la toma de decisiones con nuestro propio criterio. En conjunto todas las asignaturas del plan de estudios, al igual que las etapas del aseguramiento de la calidad, son pieza fundamental en el desarrollo de nuestras habilidades y conocimientos.

Por otro lado se requieren asignaturas de “liderazgo” que nos acrediten en la toma de decisiones ya que en la industria y en cualquier otro trabajo que deseemos desempeñar se exigen personas que puedan encabezar un grupo de trabajo.

El haber eliminado la existencia de los químicos farmacéuticos biólogos en la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán Campo 1, me hace reflexionar acerca de las oportunidades que los nuevos egresados de las dos nuevas licenciaturas tendrán en comparación de los QFB, actualmente la situación del país exige que los egresados de las universidades tengan una mejor preparación, que no se limite el desarrollo de sus habilidades y conocimiento.

Los químicos farmacéuticos biólogos, tenemos la oportunidad de desempeñarnos profesionalmente en un extenso campo laboral, porque tenemos un amplio conocimiento que no limitará las oportunidades de desarrollo dentro de un laboratorio de análisis clínicos, de hospitales, industrias de productos químicos, biológicos, farmacéuticos, cosméticos, de alimentos etc.

11.- Conclusiones

En la implementación de un programa de calidad se definieron las funciones del Químico Farmacéutico Biólogo, en base a sus fortalezas técnicas y teóricas. En la actualidad pocas empresas que elaboran productos cosméticos pueden decir que nunca han tenido una contaminación microbiológica; vivimos en un mundo en donde los microorganismos son capaces de adaptarse y crecer en el más hostil e inconcebible ambiente; por eso es importante su estudio y control; un producto contaminado podría representar un problema de salud pública causando daño al consumidor, además de dañar el valor comercial de la marca.

La crema dental es un ejemplo de estos productos en los que hay que poner énfasis en el control microbiológico, implementando programas de calidad para asegurar que todos los involucrados en la cadena de suministro estén comprometidos con el proceso; esto no es tarea fácil ya que son muchos procesos los que se involucran en la manufactura de un producto, lo que sugiere delimitar programas, funciones y responsabilidades.

El Químico Farmacéutico Biólogo, es protagonista no solo implementando programas de control de calidad, en donde se definan parámetros y frecuencias; su tarea implica también el análisis de procesos, así como la verificación para dar un soporte técnico adecuado, en donde se incluya el entrenamiento y certificación de operadores. Un punto medular en la manufactura de un producto son las materias primas; ya que pueden ser susceptibles de contaminación microbiológica o ser un medio adecuado de transporte de microorganismos.

Es importante señalar que en las empresas donde se implementan programas de validación y control microbiológico deben tener como consecuencia beneficios como disminución de las frecuencias de muestreo y análisis.

Todo este tiempo que llevo laborando en esta Empresa, aprendí que el perfil del químico farmacéutico biólogo, me ayudo a tener las bases teóricas y prácticas para desempeñar los procesos y actividades dentro de un laboratorio de microbiología, también note que es importante para la carrera, contar con materias donde te enseñen a desarrollar procedimientos y manuales ya que muchas veces en las empresas donde nos desempeñamos no cuentan con los mismos que son necesarios para llevar a cabo las Buenas Practicas de Laboratorio.

Es decir, un químico farmacéutico biólogo, con su formación desde que inicia la carrera tiene las bases y la capacidad para desarrollar esta implementación en el área de microbiología de una industria química, como en el caso de la empresa donde actualmente laboro, que se dedica a la

fabricación y distribución de diferentes productos (cuidado del hogar, cuidado personal, cuidado bucal).

El prestigio social que ha alcanzado esta empresa, es en gran parte a la logística del laboratorio de Microbiología, el cual cada día es más compleja y requiere de personal calificado, así como supervisión constante para asegurar el cumplimiento de las normas de calidad en el desarrollo de las actividades, además del cumplimiento de las BuenasPrácticas de Laboratorio, garantiza que los resultados de los análisis sean confiables y que se obtengan en el momento requerido. Sin embargo las técnicas de análisis son básicamente las mismas en cualquier empresa aunque cambien las condiciones de incubación, medios de cultivo y algunos otros detalles. El seleccionar la técnica adecuada en el laboratorio nos ayuda a prever la detección de la contaminación microbiana ya que aquellos métodos estandarizados son de alta sensibilidad y que han sido validados por organismos internacionales o nacionales de referencia.

Primeramente, para implementar cualquier método de detección, se requiere preparar las muestras a analizar, por lo que generalmente consiste en la elaboración de diluciones que permitan disminuir la concentración del microorganismo en la muestra y poder observar mejor.

Por ello, la salud y la vida dependen en muchos casos, de los productos elaborados en esta empresa teniendo la seguridad de que no contenga contaminantes, que sea seguro, que el consumidor no corra riesgos y de que sus características se mantengan por un periodo razonable y conocido. Y que las personas que participan directamente en los análisis microbiológicos, tienen una gran responsabilidad. Los esfuerzos deben estar enfocados a mejorar permanentemente los sistemas de calidad, prever fallas, y promover mecanismos de optimización.

Las organizaciones que realizan auditorías internas de Calidad, para verificar que las actividades que se realizan son adecuadas y que determinan la eficiencia del sistema de Calidad, son las que tienen mayor probabilidad de éxito. Es claro que los elementos del sistema no son estáticos por ende la experiencia se presta a contribuir con la capacidad de ajuste y de adaptación, planeando, haciendo, verificando, actuando, diseñando, estableciendo nuevos estándares.

Por ende, para que un plan de control de la Calidad funcione y para que se logre el objetivo de obtener una mejora continua en la calidad de los servicios brindados por el laboratorio, se debe llegar a la conclusión de que esto tiene que ser un compromiso de todos, desde las autoridades más altas, hasta los trabajadores con menos responsabilidades.

La preocupación por obtener resultados confiables, debido a que se encontró que varios estudios de laboratorio se realizaron bajo prácticas no aceptables, determinó la creación de programas de acreditación de laboratorios, regulaciones, sistemas de aseguramiento de calidad, con el propósito de generar resultados confiables que permitan obtener productos de calidad.

Es muy importante tomar conciencia de los riesgos que implica el mal uso de los materiales biológicos y reactivos. Cada laboratorio debe realizar un programa, con procedimientos escritos, que proporcione el empleo de prácticas de seguridad y custodia de los agentes biológicos que maneja, a fin de proteger al operador, al medio ambiente y a la población de la exposición a los microorganismos y sustancias tóxicas, a fin de evitar infecciones, aparición y/o propagación de enfermedades.

La capacitación periódica del personal tiene un rol fundamental en la prevención de accidentes físicos, químicos y biológicos ya que, cada analista debe conocer los alcances, en materia de Bioseguridad, de su profesión. La Bioseguridad absoluta es inalcanzable y solamente empleando las técnicas adecuadas para cada tipo de actividad, identificando los peligros antes de la implementación de las normas, se pueden reducir los peligros antes mencionados.

Para finalizar, es necesario tener en cuenta que el las técnicas de análisis empleadas nos ayudan a determinar la existencia, tipo y número de microorganismos que es muy importante para la microbiología.

12. Glosario.

ADS: Agar DextrosaSabouraud.

ALM: Agar Letthen Modificado.

AMC: Agar MacConkey.

Análisis: Separación, identificación y en ocasiones cuantificación de las distintas partes de un sistema complejo, investiga la naturaleza y proporción de las sustancias presentes en una muestra.

Antisepsia: Es un proceso de desinfección aplicado sobre un ser vivo.

API: Ensayos Bioquímicos Estandarizados

ATCC: American Type Culture Collection.

Área: Cuarto o conjunto de cuartos y espacios diseñados y construida para minimizar la contaminación por partículas viable o no viables, manteniéndola dentro de los límites preestablecidos.

Área Aséptica: Zona comprendida dentro del área limpia diseñada y construida para minimizar la contaminación por partículas viables y no viables, manteniéndola dentro de los límites preestablecidos.

Área limpia: Área diseñada y construida y mantenida con el objeto de tener dentro de límites el número de partículas viables y no viables en superficies y medio ambiente.

Aseguramiento de la calidad: Conjunto de actividades planeadas y sistemáticas que lleva a cabo una empresa con el objeto de brindar la confianza de que el producto o servicio cumple con los requisitos de calidad especificados.

Biocarga: Concentración de UFC presentes en un elemento determinado.

BPM o GMP's: Buenas Practicas de Manufactura (Good Manufacturing Practices).

Buenas Prácticas de Fabricación. Conjunto de normas y actividades relacionadas entre a garantizar que los productos elaborados tengan y mantengan la identidad, pureza, concentración, potencia e inocuidad requeridos para su uso.

Buenas Prácticas de Laboratorio. Conjunto de recomendaciones que se basan en la aplicación de principios científicos, técnicos y fundamentalmente de sentido común al administrar el laboratorio de control de calidad, tanto en aspectos generales como en la realización de actividades. Sirven para garantizar la integridad de los resultados obtenidos en el laboratorio así como su confiabilidad.

Calibración. Conjunto de operaciones que determinan, bajo condiciones especificadas, la relación entre los valores indicados por un instrumento o sistema de medición, o los valores representados por una medición material y los valores conocidos correspondientes a un patrón de referencia.

Calidad: Cumplimiento de especificaciones establecidas para garantizar la aptitud de uso.

Certificado de análisis. Documento que muestra las características y resultados obtenidos en los análisis realizados al lote de referencia.

CLM: Caldo Letthen Modificado.

Contaminación: Presencia de entidades químicas, físicas y biológicas indeseables.

Cuarentena. Es la retención temporal de los productos, materias primas o los material es de envase y empaque, con el fin de verificar si se encuentran dentro de las especificaciones de calidad establecidas y la regulación correspondiente.

Cuarto de retención. Es un espacio diseñado y construido bajo especificaciones definidas para la conservación por un periodo de cinco años, de insumos, productos a granel y producto terminado que ya haya sido analizado.

Desinfección: Eliminación de los agentes contaminantes presentes sobre una superficie inanimada. Se suele admitir como desinfección la destrucción del 99.999 % de los microorganismos presentes o una reducción de 5 logaritmos del número inicial de ellos. Cuando hablamos de desinfección sobre

entendemos que lo que deseamos es reducir el número de microorganismos presentes y por lo tanto debemos usar agentes BIOCIDAS.

Desviación. No cumplimiento de un requisito previamente establecido.

Distribuidor. Persona física o moral dedicada a la compra, almacenamiento y venta de fármacos, a otros participantes del proceso de medicamentos de uso humano.

Especificación. Descripción de un material, sustancia o producto, que incluye los parámetros de calidad, sus límites de aceptación y la referencia de los métodos a utilizar para su determinación.

Estéril: Medio totalmente libre de microorganismo viable.

Esterilización: Es la destrucción de todos los microorganismos presentes en una superficie, convenientemente acondicionada para evitar su recontaminación y mantener su condición de estéril.

g: Gramos.

Materia Prima: Sustancia de cualquier origen que se usa para la elaboración de medicamentos o fármacos.

Medio: Cualquier material líquido, sólido o semisólido, que soporta el crecimiento de microorganismos. Se le denomina medio de cultivo a las diferentes mezclas de sustancias nutritivas empleadas en el laboratorio para el cultivo de microorganismos.

Medio de cultivo: Es aquella solución que contiene los nutrientes necesarios para recuperar, multiplicar, aislar e identificar los microorganismos bajo las condiciones favorables de temperatura y pH.

Microorganismo: es una entidad microbiológica celular o no celular, con capacidad de replicación o de transferir material genético.

NOM: Norma Oficial Mexicana.

Producto: Un producto es todo aquello que la empresa o la organización elabora o fabrica para ofrecer al mercado y satisfacer determinadas necesidades de los consumidores.

Riesgo biológico: Probabilidad de que ante un determinado peligro se produzca un daño, pudiendo por ello cuantificarse.

Sanitización: Es la reducción de microorganismos a niveles seguros, ésta liga al concepto de limpieza.

Sistemas críticos: Son aquellos que tienen impacto directo en los procesos y/o productos.

UFC: Unidad Formadora de Colonia.

Validación: Es la evidencia documentada que demuestra que a través de un proceso específico se obtiene un producto que cumple consistentemente con las especificaciones y atributos de calidad establecidos.

12. Bibliografía.

1. Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos pag. 151.
2. Manual Práctico de Microbiología. Díaz Ramón, et al, 1999, 2ª Edición Masson 31-47, 155-162p. Control Estadístico de la Calidad, Douglas Montgomery Ed. Iberoamerica 1998 Págs. 1-2.
3. Control Total de la Calidad. Pittsfield Massachusetts, Compañía Editorial Continental S.A., Feigenbaum, V., México, 1987 3ª Edición, pág. 34 – 39.
4. Auditoria Microbiológica para conocer la Calidad de los Laboratorios de Microbiología, Bermejo. A. Yolanda 2004. Clavell. L. Pedigue . 2ª Edición 1992.
5. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993. Buenas prácticas de fabricación para el establecimiento de la industria química farmacéutica dedicados a la fabricación de los medicamentos.
6. Tesis: Establecimiento de un Sistema de Control de Calidad en el Laboratorio de Microbiología Clínica UNAM Hernández, Aragón Ma. Teresa., México, 1984 pág. 81
7. Validación de Equipos y Controles Requeridos en un Laboratorio de Microbiología Apuntes del Diplomado de Microbiología Aplicada Modulo IV, QFB Aurora Ortegón Ávila.
8. Compendio de Microbiología García, R. J.A. Picazo, JJ 2000-, Editorial Hartcourt. Pags 15-29.
10. Office Technical Service OSRD Report ,Langmuir, Washington 865-1942.
11. Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories CDH-NIH US. National Institute of Health. Department of Health and Human Services.
12. El filtrado del aire en la industria farmacéutica. Mino Covo, Edición Edit. Médica Panamericana.
13. Norma Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-1998, Buenas prácticas de fabricación para fármacos.
14. Food and Drugs; Part 211- Current Good Manufacturing Practice for Finished Pharmaceuticals.
15. Quality Control Systems for the Microbiology Laboratory: The Key to Successful Inspections. Lucía Clontz.
16. "Potential Impact of Increased Use of Biocides in Consumer Products on Prevalence of Antibiotic Resistance," Clin. Microbiol. P. Gilbert and A.J. McBain, Rev. 16 (2), 189-208, 2003.
17. Food and Drug Administration, EUA, "Process Validation: General Principles and Practices", Rev. A. January 2011.
18. Validation requirements for forming, sealing and assembly processes, 1ed. Pharmaceutical Quality System. April 2009.

19. Quality Management Systems – ProcessValidation, edition 2, guidance, January 2004.
20. Good Manufacturing Practice for Active Pharmaceutical Ingredients, guidance for industry, August 2001.
21. S. Standardization of disinfectants .Journal of the Sanitary Institute, Rideal, J.T.A. Walker. London 24, 424-441, 1903.
22. Validación de Medios de CultivoApuntes del Diplomado de Microbiología Aplicada Modulo IV QFB Guadalupe Acosta.
23. Norma Oficial Mexicana,NOM-065-SSA-1-1993, que establece las especificaciones sanitarias de los Medios de cultivos.
24. Norma ISO 17025 Medios de cultivo y reactivos. Cuesta I, Alicia;
25. Manual de medios de cultivos. Demotadt, Alemania, Merck E. 1990.
26. Official Methods of Analysis of the Association of Analytical Chemist (AOAC) – 12th. Edition.
27. Medios de Cultivo, Materiales e Instrumentos para Laboratorio de Microbiología. Dickinson, Becton C. Baltimore Bilological Laboratory Inc., 1995, pág. 262
28. Process Development - Cycle Development - Liquid Load Development- Liquid Load Patterns”.
29. Validation of Steam Sterilization in Autoclaves (De Santis and Rudo) - Loaded-chamber heat penetrationstudies – Load cool point.
30. Industrial Moist Heat Sterilization in Autoclaves - Sterilization Cycles Development
31. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos 8ª Ed. 2004 tomo 1 y 2.
32. Métodos de Análisis Microbiológico. Cano, R Sara, Ed. 2007 Pag.15-30.
33. Methods in Microbiology, Vol. 22 Ed. Grigorova R. and J.R Norris, Academic Press. 1990
34. Norma Oficial Mexicana NOM-092-SSA1-1994, Bienes y Servicios Método para la cuenta bacteriana en placa.
35. “New Approaches to the identification of microorganisms”, Jonh Wiley &Sans, Inc. 1975 Chapter 5. Heden, Carl-Guranand Illéni Tiber
36. A new rapid analysis for complete Microbial Quality Control in the ComesticIndustry.” Ludovix P.”SOFW-Journal, 126. Janhrgang 6-2000.
37. Collins, C.H. Lyne, P.M., grange J.M. 1999 Microbiological Methods, Editorial Butterworth Heinemann, Edicion 1a Pages. 13-18, 337-381.
38. Rapid Microbiological Methods in the Pharmaceutical Industry. Easte, M.C. 2003 , Edition 1a pags. 41-49.

39. Microbial Limit and Bioburden Tests: Validation Approaches and Global Requirements. Lucía Clontz.
40. Norma Oficial Mexicana NOM-089-SSA1-1994. Bienes y Servicios. Métodos para la Determinación del Contenido Microbiano en Productos de Belleza. Diario Oficial de la Federación, DIV 17,25 sept. 1995. 17-44(primer sección).
41. "Control Microbiológico del Aire Ambiente"Apuntes del Diplomado de Microbiología Aplicada Modulo IV QFB Guadalupe Acosta.
42. Buenas Prácticas de Laboratorio (GLP), Tobella, Sabater Juan, Antonio, Edil. Días de Santos S.A. pág. 25 -59.
43. Guía Oficial de Validación de la S.SA "Filtros Asépticos y Sistemas de Generación de Agua Calidad Inyectable" México 1991 pág. 3 – 12.
44. Guide to Microbiological Control in Pharmaceutical Series in Pharmaceutical Technology School 01 Health Sciences, Dener and Braird. Ellis Horwood Liverpool Polytechnic 1992,pág. 182 - 213, 220 -240.
45. Manuales de Laboratorio Instituto Politécnico Nacional. Ruiz Avilés David O.B.P. CORTEZ Gómez Alicia I.B.O., Escuela Nacional de Ciencias, México 1° Edición 1983
46. Diagnóstico Microbiológico. Buenos Aires.Argentina 1989. Fenegold, Sidney M., Ellen J. Barón Edición Edit. Médica Panamericana. pág. 21 - 26. 65 - 68
47. Guía Oficial de Validación de S.S.A. "Áreas asépticas, hornos y autoclaves"México. D.F. 1990 pág.
48. Cosmetología de Harry. 1990. Capítulo 43. Limpieza, higiene y control microbiológico en la fabricación, B Wilkinson and Rol Moore. pag.973, 980.Ediciones Díaz Santos
49. Niveles de Seguridad Biológica, Comisión de Seguridad, LÓPEZ. Mareen Luz María Dr. Madrid España. 1996 Pág. 1-2
50. Tesis: Planeación. Organización y Control de un Laboratorio de Análisis Clínico Privado UNAM, RAGAYNON, Priego Annabella. México 1987 pág. 14024
51. Curso: Evaluación y Validación de Sistemas Críticos en Áreas Asépticas. Asociación. CASTAÑEDA, Eriberto Ing., M. en C. Alba Medina Mayer, Farmacéutica Politécnica A.C. México 1988.
52. Norma Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-1993. Buenas prácticas de fabricación para el establecimiento de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de los medicamentos.
53. Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos. 7ª. Edición. México. (1994).

54. Guía Oficial de Validación de S.SA "Áreas asépticas. Hornos y autoclaves" México, D.F. 1990 pág. 2-21
55. Manual de Técnicas de Microbiología Médica, BAKER J.and M. R. Breach Editorial Acribia,S. A., Zaragoza España 1990.
56. Manual Básico de Seguridad, Higiene y Protección Ambiental, Moreno, B. Guillermo, Bristol Myers Squibb de México, SA, México, 1895 pág. 4 – 14.
57. Crecimiento bacteriano. En Programa de Educación y Actualización Farmacéutica (PROEF). Franco, M. Primer Ciclo – Módulo 3. 1999. Cap. 2, pp. 33-51- Editorial Médica Panamericana. ISSN: 1514-1551.
58. Nutrición y Crecimiento bacteriano. En Microbiología Biomédica, Franco Mirta (2006) 2ª ed. J.A. Basualdo, C.E.Coto y R.A. de Torres (eds.), pp 83-99. Editorial Atlante SRL. Argentina. ISBN: 950-9539-47-3.
59. Manual of Methods for General Bacteriology, Gerhardt, Murray, Costilow, Nester, Wood, Krieg and Phillips 981.Cap. 10-11, pp. 65-207.
60. Pharmaceutical Microbiology. American Society for Microbiology. Hugo & Russell's. 7th ed. 2004. Cap. 3, pp. 32-38. Edited by Stephen P. Denyer,
61. Prescott-Harley- Klein. Microbiología, 5ª ed. 2004. Cap. 6, pp. 118-142. Mc Graw Hill Interamericana de España S.A.U. ISBN 84-486-0525-X
62. Introducción a la Microbiología. Tortora – Funke – Case. 9ª edición, 2007. Cap. 6, págs. 159-183. Editoria IMédica Panamericana. ISBN 978-950-06-0740-7.
63. Control of microbial contamination in non-sterile pharmaceuticals, cosmetics and toiletries. Blomfield S.F.
64. Microbial Quality Assurance in Pharmaceuticals, Blomfield S.F., Baird R., Leak, R.E. and Leech R. (eds.)
65. Cosmetics and Toiletries, Ellis Horwood. Chichester, pp. 9-14
66. NOM-054-SCF1-1994: Utensilios domésticos-Ollas de presión – seguridad.
67. NOM-109-SSA1-1994: Bienes y servicios. Procedimientos para la toma, manejo y transporte de muestras de alimentos para su análisis microbiológico.
68. NOM-110-SSA1-1994: Bienes y servicios. Preparación y dilución de muestras para su análisis microbiológico.

69. NOM-112-SSA1-1994: Bienes y servicios. Determinación de bacterias coliformes. Técnica del número más probable.
70. NOM-113-SSA1-1994: Bienes y servicios. Método para la cuenta de microorganismos coliformes totales en placa.
71. Procedimiento para el examen microbiológico de superficies y utensilios. Secretaría de Salud. Laboratorio Nacional de Salud Pública. México 1990.
72. Los nueve parámetros más críticos en el muestreo biológico del aire. Sanchis, J. Revista Técnicas de Laboratorio, (278): p. 858-862, 2002.
73. Muestreo del aire, ¿Con placa de contacto o con placa petri?. Áreas para la elaboración de medicamentos, cosméticos y alimentos. Donate, A.; Herrero, M. J.; Ibáñez, M. y Sanchis, J
74. Muestreo del aire, ¿Con placa de contacto o con placa petri?. Sanchis, J. Revista Técnicas de Laboratorio, (256), 2000.