



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PRUEBA MICROBIOLÓGICA DE EFICIENCIA DE DESINFECTANTES
PARA LA INDUSTRIA FARMACEÚTICA Y SU NORMATIVIDAD**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

**QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICO FARMACEÚTICO BIÓLOGO**

**PRESENTA:
JOSEFINA DE SAN JUAN VILLEGAS MACIAS**

DIRECTOR DE TESIS: DR. RODOLFO PASTELÍN PALACIOS

ASESORES: PROF. ABEL GUTIERREZ RAMOS

PROF. MARIO ADAN MORENO EUTIMIO

PROF. JULIO CESAR MARTINEZ ALVAREZ



FACULTAD DE QUÍMICA, CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MEXICO. 2023



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

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

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



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE QUÍMICA

**PRUEBA MICROBIOLÓGICA DE EFICIENCIA DE DESINFECTANTES
PARA LA INDUSTRIA FARMACÉUTICA Y SU NORMATIVIDAD**

TRABAJO MONOGRÁFICO DE ACTUALIZACIÓN

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE

QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

PRESENTA

JOSEFINA DE SAN JUAN VILLEGAS MACIAS



Ciudad Universitaria CD. MX

2023

JURADO ASIGNADO:

PRESIDENTE: Profesor: Rodolfo Pastelín Palacios
VOCAL: Profesor: Abel Gutiérrez Ramos
SECRETARIO: Profesor: Norma Angélica Castellanos Chávez
1er. SUPLENTE: Profesor: Mario Adán Moreno Eutimio
2° SUPLENTE: Profesor: Julio César Martínez Álvarez

SITIO DONDE SE DESARROLLÓ EL TEMA: FACULTAD DE QUÍMICA

ASESOR DEL TEMA: Profesor: Rodolfo Pastelín Palacios

SUSTENTANTE: Josefina de San Juan Villegas Macias

Índice

1. INTRODUCCIÓN.....	5
1.2 Generalidades	6
2. PROCESO DE DESINFECCION SANITIZACION EN LABORATORIOS FARMACEÚTICOS	8
2.1 Definiciones.	8
2.2 Símbolos y abreviaturas	21
2.3 Proceso de sanitización.	22
2.3.1 Programa de limpieza	22
2.3.2 Técnicas de sanitización.....	23
2.3.3 Evaluación de la limpieza	25
2.4 Importancia del proceso de desinfección.	28
3. DESINFECTANTES	30
3.1 Tipos de desinfectantes	30
3.1.1 Alcoholes.....	30
3.1.2 Aldehídos	31
3.1.3 Halógenos.....	33
3.1.4 Acido Peracético	34
3.1.5 Peróxido De Hidrogeno.....	34
3.1.6 Agentes Fenólicos	34
3.1.7 Cuaternarios de amonio.....	35
3.1.8 Biguanidas	36
3.2 Selección de desinfectantes.....	36
3.2.1 Cuadros comparativos	37
3.2.2 Características	38
3.2.3 Aspectos que influyen en su efectividad.....	52
4. PRUEBAS DE EFICACIA DE DESINFECTANTES.....	53
4.1 Consideraciones generales en las pruebas realizadas para la determinación de la actividad microbiciada y esporiciada.	53
4.2 Selección del método de análisis.....	58
4.2.1 Método de Coeficiente Fenólico	58
4.2.2 Método de Uso-Dilución.....	59
4.2.3 Método de Pruebas de desafío superficial	59

4.3 Métodos de eficacia de desinfectantes	64
4.3.1 AOAC – Métodos de prueba según la Association of Official Analytical Chemists	64
4.3.2. Pruebas de eficacia de los desinfectantes - Enfoque europeo de pruebas por niveles.....	65
4.3.3 Normas británicas (BS) Métodos de prueba EN	66
5. NORMATIVIDAD MEXICANA	69
5.1 Normas Mexicanas relacionadas.....	69
5.2 Documentación requerida por COFEPRIS	70
5.3 Otros requerimientos regulatorios	71
5.3.1 Anexo 15 de la UE.....	71
5.3.2 Health Canada	71
5.3.3 FDA.....	72
5.3.4 OMS.....	72
5.3.5 PIC/S	73
5.3.6 Cartas de advertencia publicadas	73
5.3.7 cGMP 21 CFR 211.67, Limpieza y Mantenimiento de Equipos	74
6. NUEVAS METODOLOGIAS EN DESARROLLO	74
6.1 RMM para la identificación microbiana	74
6.2 RMM para el análisis cualitativo (detección de microorganismos; presencia/ausencia)	75
6.3 RMM para el análisis cuantitativo (enumeración de microorganismos)	75
7. CONCLUSIONES.....	75
8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS	76
9. BIBLIOGRAFIA.....	78
10. ANEXOS	80
10.1 Protocolo e informe de la validación.	80
10.2 Protocolo de validación de desinfectantes	82
10.3 Apéndice A Normativo. Áreas de fabricación.	86
10.4 Infografías para desinfectantes según la epa.	88
10.5 Guía para las buenas prácticas de fabricación de medicamentos anexo 20 de GMP	92
10.6 Anexo RMM Identificación de microorganismos	98
10.7 Anexo RMM Análisis cualitativo (detección de microorganismos: presencia/ausencia).....	101
10.8 Anexo RMM Análisis cuantitativo (enumeración de microorganismos)	104

1. INTRODUCCIÓN.

El control microbiológico en la industria farmacéutica es de suma importancia, ya que garantiza la seguridad y calidad de estos productos.

El costo de una contaminación microbiana es muy alto, ya que involucra producto manufacturado, equipo, líneas de llenado, material de empaque si es que fue empacado, recolección de este si salió de planta, y finalmente credibilidad de la marca. Un producto contaminado, puede poner en riesgo la vida del paciente.

Para ello la industria farmacéutica ha desarrollado herramientas para evitar cualquier contaminación debida a microorganismos y en última instancia la mitigación oportuna del evento, teniendo como marco, un adecuado sistema de gestión de calidad, basada en las normas mexicanas vigentes, las cuales también serán revisadas en este trabajo.

Entre estas herramientas podemos citar:

- I. Buenas prácticas de manufactura.
- II. Buenas prácticas de Laboratorio.
- III. Capacitaciones constantes y actualizadas.
- IV. Auditorias constantes internas y externas.
- V. Validación de procesos, de los cuales el que nos interesa, es el proceso de limpieza.
 - a) Selección adecuada de sus agentes detergentes y sanitizantes.
 - b) Validación de desinfectantes
 - c) Rotación de desinfectantes
 - d) Seguimiento de la efectividad de los desinfectantes en uso.

Durante los procesos de manufactura, se controlan todos los contaminantes físicos, químicos y biológicos indeseables en los productos.

Entre los contaminantes físicos, podemos mencionar, cabellos, pelusas, virutas, sedimentos, partes de empaques, etc. Estos contaminantes pueden ser visibles o no, sin embargo, pueden causar problemas en los productos, desde aspecto, administración, dosificación, o distribución en el paciente. Incluso pueden resultar en contaminaciones cruzadas químicas y /o microbiológicas.

Como contaminantes químicos, consideramos a aquellos ingredientes que hayan quedado adheridos en las paredes, coyunturas, líneas de llenado, etc. Los cuales alteran de manera significativa la fórmula del siguiente producto en manufactura.

Los contaminantes microbianos, pueden ser: bacterias, hongos o levaduras. Provenientes de las materias primas, de las bicapas formadas y que no se hayan retirado de manera eficiente, del personal, del ambiente, de envases, de componentes de embalaje, de sistemas críticos, de equipos, de superficies, de agua de proceso.

La manera de asegurar una limpieza adecuada en cada proceso de manufactura es precisamente la validación de limpieza, en donde se establecen los límites permisibles de estas contaminaciones sin afectar al siguiente producto que se manufacture y asegurando su calidad.

El alcance de este proceso parte desde, certificación de proveedores, instalaciones, personal, equipo y aparatos, materiales y contenedores usados en la producción, productos de limpieza y desinfección, y todo aquello que represente una fuente de contaminación para el producto. En el caso del personal, las BPF permitirán el control del microbiota, en especial el lavado de manos y el uso adecuado de la indumentaria de las áreas de fabricación, así como restricciones de salud en operarios.

En este trabajo expondré los puntos clave del proceso de validación, dando mayor peso a la selección de desinfectantes, observando las regulaciones mexicanas involucradas en este paso de la validación.

También revisaré las metodologías que emiten los diferentes organismos regulatorios, para establecer los límites aceptables de limpieza.

1.2 Generalidades

En las instalaciones donde se genera polvo (por ejemplo: durante los muestreos, pesado, mezclado y proceso, así como en el área de acondicionado), deben tomarse medidas que faciliten la limpieza y sanitización.

Los edificios deben estar localizados en un ambiente que, en lo posible, represente el mínimo riesgo de contaminación, y deben ser diseñados para una fácil sanitización.

La limpieza y sanitización realizados en los edificios debe ser correctamente documentada (1).

Los requerimientos sanitarios en las instalaciones en fabricación, así como superficies internas (paredes, pisos y techos), deben contemplar superficies suaves, libre de grietas y articulaciones abiertas, y deben permitir su fácil limpieza y sanitización.

Para los equipos y superficies, es necesario el uso de sanitizantes que puedan controlar y eliminar de manera segura la carga microbiana que se va generando durante los procesos propios del área y no dejen residuos, por lo que es necesario incluirlo en el Protocolo de Validación de Limpieza.

Para ello, es necesario elaborar un programa adecuado de limpieza y sanitización para alcanzar los niveles de seguridad que la normatividad exige. Cuando se emplean sanitizantes en el entorno de fabricación, se debe tener cuidado para evitar la contaminación del producto con sanitizantes, ya que puede provocar un efecto tóxico en el usuario, y es importante que la determinación de residuos entre en el protocolo de validación de limpieza

Rodenticidas, insecticidas, agentes fumigantes y desinfectantes no deben contaminar el equipo, material usado en la producción de medicamentos, ni los productos en proceso y ni producto final.

Para conocer y controlar los contaminantes microbiológicos de las diferentes áreas, es necesario el monitoreo ambiental regular de las áreas, así como la validación del sistema de agua, de HVAC, conocer las cargas microbianas de las materias primas involucradas y la capacitación constante, y establecer un estudio de riesgos por cada formulación.

De tal manera que de identifiquen las fuentes potenciales de contaminación, y puedan ser eliminadas, y/o mitigadas a través de programas efectivos de higiene y sanitización (1).

Otra herramienta en el control de contaminaciones es rol de sanitizantes, en el cual debe incluirse el uso de un esporicida, evaluado con esporas de bacterias y hongos, y no con las células vegetativas.

Debido a que en varias Farmacopeas, Normas, Técnicas y artículos hacen diferencia entre el término Sanitizante y Desinfectante, en esta guía los tomaremos como sinónimos, para evitar confusiones y ser el término más utilizado en la industria y diferenciarlo con el concepto del campo hospitalario.

Sin embargo, en la siguiente tabla se precisan las diferencias entre ambos:

DIFERENCIAS ENTRE SANITIZANTE Y DESINFECTANTE

	Sanitizante	Desinfectante
Reducción microbiana alcanzada en superficies que no tienen contacto con alimentos	99.9% (5 minutos)	99.9999% (10 minutos)
Reducción microbiana alcanzada en superficies que tienen contacto con alimentos.	99.999% (30 segundos)	99.9999% (10 minutos)
Control de virus y hongos	NO	SI

2. PROCESO DE DESINFECCION SANITIZACION EN LABORATORIOS FARMACEÚTICOS

2.1 Definiciones.

- 2.1.1 Acabado sanitario: Terminación que se le da a las superficies interiores de las áreas con la finalidad de evitar la acumulación de partículas viables y no viables y facilitar su limpieza.
- 2.1.2 Acción correctiva: Actividades que son planeadas y ejecutadas, con el fin de eliminar la causa de una desviación o no conformidad.
- 2.1.3 Acción preventiva: Actividades que son planeadas y ejecutadas, para eliminar la causa de una desviación o no conformidad u otra situación potencialmente indeseable y evitar su recurrencia.
- 2.1.4 Acuerdo técnico: Documento en el que se formalizan y detallan las condiciones en que serán llevadas a cabo actividades o servicios prestados entre las partes y en el que se describen claramente las obligaciones y responsabilidades de cada una de ellas, especialmente en lo referente a los aspectos de calidad y las BPF.
- 2.1.5 Agentes adventicios: Microorganismos contaminantes de un cultivo celular y/o de los materiales de partida de origen animal (mycoplasmas-espiroplasmas, rickettsias,

virus, priones u otras formas moleculares) que se introducen de manera no intencional dentro del proceso de fabricación y que potencialmente pueden contaminar células procariotas o eucarióticas usadas en la producción.

- 2.1.6 Actividad antimicrobiana. Propiedad que tiene una sustancia para inhibir o matar a los microorganismos.
- 2.1.7 Agente químico antimicrobiano. Sustancia utilizada para destruir o suprimir el desarrollo de microorganismos, ya sean bacterias, hongos o virus, en objetos inanimados o superficies.
- 2.1.8 Agente de limpieza. Solución o solvente utilizado en el lavado en los procesos de limpieza. Pueden ser: agua, solventes orgánicos, productos químicos diluidos, y detergentes formulados diluido en agua.
- 2.1.9 Análisis de Tendencia. Análisis de datos ambientales a lo largo del tiempo que indican un cambio. Tendencias adversas requieren investigación.
- 2.1.10 Aislamientos. Microorganismos recuperados de una instalación.
- 2.1.11 Antiséptico. Agente que inhibe o destruye microorganismos sobre tejido vivo incluyendo piel, cavidad oral y heridas abiertas.
- 2.1.12 Almacenamiento: Conservación de insumos, producto a granel y terminado en áreas con condiciones establecidas
- 2.1.13 Acondicionamiento: Todas las operaciones a las que tiene que someterse un producto a granel hasta llevarlo a su presentación como producto terminado. Se considera primario al que se encuentra en contacto directo con el medicamento y secundario al que incluye al medicamento en su empaque primario.
- 2.1.14 Área: Cuarto o conjunto de cuartos y espacios diseñados y construidos bajo especificaciones definidas.
- 2.1.15 Área aséptica: Área diseñada, construida y mantenida con el objeto de tener dentro de límites preestablecidos el número de partículas viables y no viables en superficies y medio ambiente.
- 2.1.16 Aseguramiento de calidad: Conjunto de actividades planeadas y sistemáticas que lleva a cabo una empresa, con el objeto de brindar la confianza, de que un producto o servicio cumple con los requisitos de calidad especificados.

- 2.1.17 Auditoría: Proceso sistemático, independiente y documentado para obtener evidencias y evaluarlas de manera objetiva con el fin de determinar el nivel en que se cumplen los criterios establecidos.
- 2.1.18 Autocontención: Conjunto de condiciones físicas y operacionales que evitan la liberación de partículas de alto riesgo al exterior, lo cual incluye barreras físicas, colectores y sistemas de aire independientes y dedicados, así como el tratamiento de efluentes de aire, agua y materiales antes de su disposición final.
- 2.1.19 Banco Celular de Trabajo: Preparación de alícuotas de una suspensión homogénea de células obtenidas de cultivar el Banco Celular Maestro bajo condiciones de cultivo definidas.
- 2.1.20 Banco Celular Maestro: Alícuota de una colección celular que en su desarrollo ha sido preparada de las células clonadas bajo condiciones definidas, contenida dentro de múltiples envases y almacenada bajo condiciones específicas.
- 2.1.21 Bar: Unidad de medición de presión equivalente a 100 kPa o a un millón de barias, aproximadamente igual a una atmósfera.
- 2.1.22 Biocarga: Nivel y tipo de microorganismos que pueden estar presentes en cualquiera de los elementos de la fabricación (insumos, instalaciones, personal, entre otros).
- 2.1.23 Bioseguridad: Conjunto de medidas y acciones orientadas a la protección del personal, comunidad y medio ambiente para el manejo de agentes que representan un riesgo a la salud. Se clasifica en los siguientes niveles:
- 2.24.1 Nivel 1 de Bioseguridad. Está caracterizado por un nivel básico de contención sin barreras especiales primarias y secundarias, en el que se manipulan agentes bien caracterizados que no representan un riesgo potencial para el personal y el ambiente.
- 2.24.2 Nivel 2 de Bioseguridad. Es aquél en el que se manipulan agentes que representan un peligro moderado para el personal y el ambiente, el acceso debe ser restringido cuando el trabajo se esté llevando a cabo y debe llevarse a cabo en cabinas de bioseguridad u otros equipos de contención física.

2.24.3 Nivel 3 de Bioseguridad. Se aplica para el manejo de agentes patógenos letales que pueden causar enfermedades graves o potencialmente mortales. Todas las operaciones deben llevarse a cabo dentro de cabinas de bioseguridad u otro sistema cerrado. Las áreas deben tener características especiales de diseño que permitan el acceso controlado, la descontaminación previa de materiales y evitar la liberación de aerosoles al exterior.

2.24.4 Nivel 4 de Bioseguridad. Se utiliza cuando se manipulan agentes peligrosos y exóticos que presentan un riesgo elevado y potencialmente mortal, no existen vacunas o tratamientos disponibles; representan un riesgo grave al personal, comunidad y ambiente. Todas las operaciones deben ser llevadas a cabo en cabina de bioseguridad clase III, o en cabina de bioseguridad clase II en combinación con uso de traje presurizado por el personal; el edificio debe ser independiente o ser una zona aislada, el suministro de aire debe ser dedicado para cada área y el aire debe ser descontaminado previamente a su salida; todos los materiales utilizados deben ser descontaminados previo a su salida y el personal debe cambiarse de ropa y ducharse antes de salir.

2.1.24 Bioterio: Conjunto de instalaciones, muebles e inmuebles destinados al alojamiento y manutención de animales de laboratorio durante una o varias de las fases de su ciclo vital; esto es, nacimiento, desarrollo, reproducción y muerte.

2.1.25 Buenas prácticas de fabricación: Conjunto de lineamientos y actividades relacionadas entre sí, destinadas a asegurar que los medicamentos elaborados tengan y mantengan las características de identidad, pureza, seguridad, eficacia y calidad requeridas para su uso.

2.1.26 Buenas prácticas de laboratorio: Conjunto de reglas, procedimientos operacionales y prácticas establecidas para asegurar la calidad e integridad de las actividades realizadas en el laboratorio y de los datos analíticos obtenidos de ensayos o pruebas.

2.1.27 Cabezal múltiple (manifold): Equipo o aparato diseñado para permitir el venteo, vacío o llenado sincronizado de uno o más contenedores de gas.

- 2.1.28 Calibración: Demostración de que un instrumento particular o dispositivo produce resultados dentro de límites especificados, en comparación con los producidos por una referencia o estándar trazable sobre un intervalo de mediciones establecido.
- 2.1.29 Calidad: Cumplimiento de especificaciones establecidas para garantizar la aptitud de uso.
- 2.1.30 Calificación, a la realización de las pruebas específicas basadas en conocimiento científico, para demostrar que los equipos, sistemas críticos, instalaciones, personal y proveedores cumplen con los requisitos previamente establecidos, la cual debe ser concluida antes de validar los procesos.
- 2.1.31 Calificación de desempeño: Evidencia documentada de que las instalaciones, sistemas, y equipos se desempeñan cumpliendo los criterios de aceptación previamente establecidos.
- 2.1.32 Calificación de diseño: Evidencia documentada que demuestra que el diseño propuesto de las instalaciones, sistemas y equipos es conveniente para el propósito proyectado.
- 2.1.33 Calificación de instalación: Evidencia documentada de que las instalaciones, sistemas y equipos se han instalado de acuerdo con las especificaciones de diseño previamente establecidas.
- 2.1.34 Calificación de operación: Evidencia documentada que demuestra que el equipo, las instalaciones y los sistemas operan consistentemente, de acuerdo con las especificaciones de diseño establecidas.
- 2.1.35 Campaña de fabricación: Fabricación de una serie de lotes del mismo producto en un periodo definido de tiempo seguido por actividades de limpieza y, en su caso, de sanitización, antes de pasar a otro producto. Los productos diferentes no son producidos al mismo tiempo, pero si utilizando el mismo equipo.
- 2.1.36 Capacitación: Actividades encaminadas a generar o desarrollar habilidades en el personal.
- 2.1.37 Certificado de análisis: Resumen de los resultados obtenidos de las determinaciones efectuadas a muestras de productos, materias primas, materiales o cualquier otro insumo, que incluya las referencias de los métodos de análisis o de

prueba utilizados y la determinación del cumplimiento a especificaciones previamente establecidas, avalado por la persona autorizada.

- 2.1.38 Certificado de Buenas Prácticas de Fabricación: Documento emitido por la Autoridad Sanitaria de un país, posterior a una visita de verificación sanitaria realizada a un establecimiento, para confirmar su estado de cumplimiento de las Buenas Prácticas de Fabricación conforme a las disposiciones jurídicas aplicables.
- 2.1.39 Condiciones dinámicas: Aquéllas en donde la instalación se encuentra funcionando en el modo operativo definido y con el número especificado de personal.
- 2.1.40 Condiciones estáticas: Aquéllas en las que el sistema de aire se encuentra operando, con el equipo de producción completo e instalado, sin personal presente.
- 2.1.41 Conexión de acoplamiento de cilindros: Unión roscada de la válvula del cilindro, que acopla y conecta un tubo o manguera flexible o un regulador de presión al cilindro, evitando errores en el intercambio en el uso de gases.
- 2.1.42 Contaminación, a la presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables.
- 2.1.43 Contaminación cruzada, a la presencia de entidades físicas, químicas o biológicas indeseables, procedentes de un proceso o producto diferente.
- 2.1.44 Contaminante, a las impurezas indeseables de naturaleza química o microbiológica, o de materia extraña, presentes en un insumo, producto intermedio y/o producto terminado.
- 2.1.45 Control de cambios, a la evaluación y documentación de cualquier cambio que pudiera impactar en la calidad del producto.
- 2.1.46 Control en proceso, a las verificaciones realizadas durante la fabricación para el seguimiento, y de ser necesario, ajuste del proceso.
- 2.1.47 Criterios de aceptación, a las especificaciones, estándares o intervalos predefinidos que deben cumplirse bajo condiciones de prueba preestablecidas.
- 2.1.48 Cuarentena, al estado de los insumos y productos que impiden su disposición para una etapa posterior y/o liberación y que puede evidenciarse a través de la separación física u otros medios.
- 2.1.49 Cubierta. La distribución apropiada de un agente químico necesario sobre la superficie del equipo para ser efectivo.

- 2.1.50 Desviación o no conformidad, al no cumplimiento de un requisito previamente establecido.
- 2.1.51 Documentos maestros, a los documentos autorizados que contienen la información para realizar y controlar las operaciones de los procesos y actividades relacionadas con la fabricación de un producto.
- 2.1.52 Detergente. Un agente humectante sintético y emulsificante que puede ser adicionado a un solvente para mejorar la eficiencia de la limpieza.
- 2.1.53 Desinfectante. Agente químico utilizado sobre superficies inanimadas y objetos para destruir hongos, virus y bacterias infecciosos, pero no necesariamente sus esporas. Pueden clasificarse el alto, medio y bajo nivel de acuerdo con su eficacia contra varios microorganismos.
- 2.1.54 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 sobreentendemos que lo que deseamos es reducir el número de microorganismos presentes y por lo tanto debemos usar agentes BIOCIDAS.
- 2.1.55 Desinfección de transferencia. Un proceso de desinfección realizado en materiales y equipos que recubren las superficies durante un tiempo de humectación validado para remover la biocarga previo a la introducción de dichos artículos a las áreas clasificadas.
- 2.1.56 DL50. Dosis Letal Media o Concentración Letal Media, de una toxina, radiación o patógeno; la dosis requerida para matar la mitad de los miembros de una población evaluada después de un tiempo de prueba especificado. Los valores de DL50 son frecuentemente utilizados como un indicador general de la toxicidad aguda de las sustancias.
- 2.1.57 Eficacia Grado en que una intervención o tratamiento origina un resultado esperado en ciertas condiciones, medido en el contexto de un Ensayo Clínico o Preclínico Controlado.

- 2.1.58 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.
- 2.1.59 Esporicida: Agente que destruye esporas bacterianas y de hongos, cuando es utilizado en una concentración suficiente en un tiempo de contacto especificado. Se espera que mate a todos los microorganismos vegetativos.
- 2.1.60 Esterilizante: Agente que destruye todas las formas de vida microbiana como hongos, virus y bacterias, incluyendo sus esporas.
- 2.1.61 Expediente de fabricación de lote: Conjunto de documentos que demuestran que un lote de producto fue fabricado y controlado de acuerdo con el documento maestro.
- 2.1.62 Fabricación: Operaciones involucradas en la elaboración o producción de un medicamento desde la recepción de insumos, liberación, almacenamiento y distribución como producto terminado.
- 2.1.63 Fecha de caducidad: Fecha que indica el fin del periodo de vida útil del medicamento.
- 2.1.64 Fecha de reanálisis: Fecha límite para utilizar un fármaco o aditivo; para continuar usándolo deberá ser nuevamente muestreado y analizado con la finalidad de confirmar que continúa cumpliendo las especificaciones de calidad establecidas.
- 2.1.65 Fibra: Cualquier partícula contaminante con una longitud al menos tres veces mayor que su grosor.
- 2.1.66 Firma electrónica: Compilación de datos computacionales o cualquier símbolo o serie de símbolos, ejecutados, adoptados, o autorizados por un individuo para ser legalmente adjuntados y equivalentes a la firma autógrafa del individuo.
- 2.1.67 Germicida: Productos químicos que destruyen una amplia gama de microorganismos sobre superficies o tejidos.
- 2.1.68 Gestión de riesgos de calidad: Proceso sistemático para la valoración, control, comunicación y revisión de los riesgos a la calidad de los medicamentos a través de su ciclo de vida.
- 2.1.69 Irradiación gamma. Al proceso por el cual un material se esteriliza por la exposición a una fuente radioactiva, como es el Cobalto 60.

- 2.1.70 Inactivación viral: Eliminación de la actividad viral, a través de un método químico o físico.
- 2.1.71 Instalación: Áreas, equipos y servicios destinados para realizar una operación o proceso específico.
- 2.1.72 Instructivo de trabajo: Descripción detallada, secuencial y específica de una tarea.
- 2.1.73 Insumos: Todas aquellas materias primas, material de envase primario, material de acondicionamiento y productos que se reciben en una planta.
- 2.1.74 Liberación concurrente: Liberación para distribución de un lote de medicamento fabricado, siguiendo un protocolo de calificación de proceso que cumple los criterios para su liberación establecidos antes de que el protocolo esté completo.
- 2.1.75 Liberación de lote: Dictamen que indica la disposición del producto a partir de una revisión sistemática para asegurar la calidad desde todos los aspectos, particularmente los de las Buenas Prácticas de Fabricación.
- 2.1.76 Limpieza: Proceso para la disminución de partículas no viables a niveles establecidos.
- 2.1.77 Línea celular: Tipo de población celular con características definidas que se originaron por subcultivos seriados de una población celular primaria.
- 2.1.78 Llenado aséptico simulado: Operación de llenado utilizando medio de cultivo en lugar de producto, poniéndolo en contacto con las superficies del equipo, sistemas de cierre, ambiente y operaciones del proceso para reproducir las condiciones de operación.
- 2.1.79 Lote semilla de trabajo: Cultivo de un microorganismo derivado de un lote de semilla maestro o de un lote de semilla intermedio. Está destinado a un uso en producción.
- 2.1.80 Lote semilla maestro (Master Seed Lot): Cultivo de un microorganismo derivado del lote de semilla pre-maestro, distribuido en contenedores en una sola operación, de manera que garantice la homogeneidad y la estabilidad, evitando cualquier contaminación.

- 2.1.81 Manual de calidad: Documento que describe el Sistema de Gestión de Calidad de acuerdo con la política y los objetivos de la calidad establecidos en el mismo manual.
- 2.1.82 Maquila: Proceso o etapa de un proceso involucrado en la fabricación de un medicamento, realizado por un establecimiento diferente del titular del Registro Sanitario; puede ser nacional, internacional, temporal o permanente.
- 2.1.83 Monitoreo ambiental: Describe los procesos y actividades que deben de llevarse a cabo para caracterizar y monitorear la calidad del medio ambiente.
- 2.1.84 Muestra de retención: Cantidad suficiente de materias primas o producto para llevar a cabo dos análisis completos, excepto prueba de esterilidad y pirógenos.
- 2.1.85 Muestra: Cantidad de material cuya composición es representativa del lote que va a ser examinado.
- 2.1.86 Número de lote: Combinación numérica o alfanumérica que identifica específicamente un lote.
- 2.1.87 Partículas viables: Cualquier partícula que bajo condiciones ambientales apropiadas puede reproducirse.
- 2.1.88 Pase: Transferencia sucesiva de microorganismos o cultivos celulares a través de varios medios de cultivo. Cada resiembra representa un número de pase.
- 2.1.89 Peor caso: Condición o conjunto de condiciones que abarcan límites y circunstancias superiores y/o inferiores de proceso, dentro de procedimientos normalizados de operación, que poseen la mayor oportunidad de falla en el proceso cuando se compara con condiciones ideales. Tales condiciones no inducen necesariamente a fallas en el producto o proceso.
- 2.1.90 Periodo de reanálisis: Tiempo durante el cual un fármaco o aditivo que es conservado en las condiciones indicadas por el fabricante permanece dentro de las especificaciones de calidad establecidas para su uso
- 2.1.91 Plan maestro de validación: Documento que especifica la información referente a las actividades de validación que realizará el establecimiento, donde se definen detalles y escalas de tiempo para cada trabajo de validación a realizar. Las responsabilidades relacionadas con dicho plan deben ser establecidas.

- 2.1.92 Procedimiento normalizado de operación: Documento que contiene las instrucciones necesarias para llevar a cabo de manera reproducible una operación.
- 2.1.93 Producción: Operaciones involucradas en el procesamiento de insumos para transformarlos en un producto a granel.
- 2.1.94 Producto a granel: Producto en cualquier etapa del proceso de producción antes de su acondicionamiento primario.
- 2.1.95 Producto devuelto: Producto distribuido que se regresa al establecimiento.
- 2.1.96 Producto intermedio: Material obtenido durante etapas de la producción antes de convertirse en un producto a granel.
- 2.1.97 Producto semiterminado: Producto que se encuentra en su envase primario y que será sometido a etapas posteriores para convertirse en producto terminado.
- 2.1.98 Producto terminado: Medicamento en su presentación final.
- 2.1.99 Programa de monitoreo ambiental: Establecimiento de una secuencia cronológica de actividades para evaluar el cumplimiento de los parámetros establecidos de partículas viables y no viables en un ambiente controlado.
- 2.1.100 Protocolo, o plan de trabajo: Escrito que establece los objetivos, procedimientos, métodos y criterios de aceptación, para realizar un estudio.
- 2.1.101 Prueba in-situ: Un estudio de campo que valida la efectividad de un agente desinfectante, la capacitación de los operadores, y los procedimientos operativos aprobados
- 2.1.102 Purga o venteo: Proceso de liberación de gas o fluido de un contenedor o sistema de llenado.
- 2.1.103 Reducción Logarítmica: Se define la reducción microbiana en una potencia de 10, por lo que el primer logaritmo se considera que reduce el 90 %, el segundo logaritmo el 99 %, y el tercero el 99.9 % del inóculo original.
- 2.1.104 Registro electrónico: Conjunto de información que incluye datos electrónicos (texto, numérico, gráfico) que es creado, modificado, mantenido, archivado, restaurado o transmitido a través de un sistema computarizado.
- 2.1.105 Registro: Documento que presenta evidencia de las acciones realizadas para demostrar el cumplimiento de actividades o instrucciones.

- 2.1.106 Reporte: Documento de la realización de operaciones, proyectos o investigaciones específicas, que incluye resultados, conclusiones y recomendaciones.
- 2.1.107 Reproceso: Proceso por el cual se somete un lote total o parcial, a una o más etapas definidas del proceso validado de fabricación debido a incumplimiento en las especificaciones.
- 2.1.108 Requisito: Circunstancia o condición necesaria para el cumplimiento de una obligación.
- 2.1.109 Retrabajo: Proceso para someter un lote total o parcial a una o más etapas no definidas del proceso validado de fabricación debido al incumplimiento en las especificaciones.
- 2.1.110 Revisión anual de producto o revisión de la calidad del producto: Análisis histórico de la calidad de un producto, el cual toma como referencia todos los documentos regulatorios vigentes en el ámbito químico farmacéutico nacional, los criterios internacionales reconocidos generalmente, así como los lineamientos internos de cada empresa.
- 2.1.111 Robustez: Capacidad de un proceso de ser insensible, en cierta medida conocida, a factores que pudieran afectarlo en las condiciones establecidas.
- 2.1.112 Sanitización: Acción de eliminar o reducir los niveles de partículas viables por medio de agentes físicos o químicos, posterior a la actividad de limpieza. Cuantitativamente se admite como umbral de acción de un sanitizante la destrucción del 99.9% (3 logaritmos) de la carga inicial.
- 2.1.113 Sanitizante: Agente que reduce, en superficies inanimadas, el número de todas las formas de vida microbiana incluyendo hongos, virus y bacterias.
- 2.1.114 Seguridad: Valoración del beneficio que produce un medicamento frente a sus posibles riesgos en un momento dado.
- 2.1.115 Sistema de Gestión de Calidad: Manera como la organización dirige y controla las actividades asociadas con la calidad.
- 2.1.116 Sistema vector-hospedero: Elemento genético capaz de introducir ácido desoxirribonucleico y causar su replicación y expresión en una célula hospedera.

- 2.1.117 Sistemas críticos: Aquellos sistemas que tienen impacto directo en los procesos y productos.
- 2.1.118 Tiempo de contacto: Cantidad mínima de tiempo que un sanitizante, desinfectante o esporicida debe dejarse en contacto completo (humectado) con la superficie a tratar para que sea efectivo. Validación. Evidencia documentada que proporciona garantía de que un proceso, método o sistema específico producirá resultados consistentemente que cumplan con los criterios de aceptación.
- 2.1.119 Transferencia de tecnología: Proceso sistemático que es seguido para pasar el conocimiento y la experiencia durante el desarrollo y/o comercialización a otra unidad responsable y autorizada. Este proceso incluye la transferencia de documentación y la capacidad demostrada de la unidad receptora del desempeño efectivo de los elementos críticos de la tecnología transferida hasta la satisfacción de todas las partes y cumplimiento de la normativa vigente.
- 2.1.120 Trazabilidad: Capacidad de reconstruir la historia, localización de un elemento o de una actividad, por medio de registros de identificación.
- 2.1.121 Validación: Evidencia documental generada a través de la recopilación y evaluación científicas de los datos obtenidos en la calificación y de las pruebas específicas, a lo largo del todo el ciclo de vida de un producto, cuya finalidad es demostrar la funcionalidad, consistencia y robustez de un proceso dado en cuanto a su capacidad para entregar un producto de calidad.
- 2.1.122 Validación de limpieza: Evidencia documentada de que un procedimiento de limpieza para las áreas y equipos usados en la fabricación de medicamentos reduce a un nivel preestablecido los residuos del agente de limpieza y producto procesado.
- 2.1.123 Validación prospectiva: Evidencia a la que se concluye previo a la comercialización de los medicamentos.

2.2 Símbolos y abreviaturas

Símbolos.

%	Porcentaje.
±	Más menos.
>	Mayor que.
<	Menor o igual que.
>	Mayor o igual que.
°C	Grado Celsius.
µm	Micrómetro.
m ³	Metro cúbico.
mm	Milímetro.

Abreviaturas.

ATCC- American Type culture collection

BPAD - Buenas Prácticas de Almacenamiento y Distribución.

BPD - Buenas Prácticas de Documentación.

BPL - Buenas Prácticas de Laboratorio

BPF- Buenas Prácticas de Fabricación.

CAPA- Acciones correctivas, acciones preventivas (por sus siglas en inglés, Corrective Action and Preventive Action).

COFEPRIS- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios.

DCI- Denominación Común Internacional.

EMSF- Expediente Maestro del Sitio de Fabricación.

FEUM- Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos.

FHOEUM- Farmacopea Homeopática de los Estados Unidos Mexicanos.

HEPA- Filtro de aire de alta eficiencia (sus siglas en inglés, High Efficiency Particulate Air).

HR- Humedad relativa.

HVAC -Sistema de aire acondicionado y calefacción (por sus siglas en inglés, Heating, Ventilation and Air Conditioning).

n.a. - No aplica.

PAT- Tecnología analítica de procesos (por sus siglas en inglés, Process Analytical Technology).

PIC/S- Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme.

PMV- Plan maestro de validación.

PNO- Procedimiento normalizado de operación.

RAP- Revisión Anual de Producto.

SOP- Standard Operating Procedures

UFC- Unidades formadoras de colonias.

2.3 Proceso de sanitización.

2.3.1 Programa de limpieza

Un programa de limpieza sólido es esencial para minimizar la acumulación de residuos de productos y químicos antimicrobianos, partículas visibles y materiales extraños que pueden inhibir la acción de un agente biocida en las superficies de las áreas clasificadas. La limpieza mejora la penetración de desinfectantes en las superficies porosas y la eficacia de los procesos de sanitización.

El proceso de sanitización forma parte de la validación de limpieza, y esta especificado en el plan maestro de validación por medio de los procedimientos estándares de operación SOP.

En los SOP debe establecerse:

1. Descripción detallada de la actividad de limpieza, que procedimiento de limpieza se debe realizar.
2. Equipo o equipos utilizados para tal fin.
3. Higiene personal.
4. Para equipos debe detallarse el desarme y pre-limpieza del equipo, registro de rearme a evaluación previa por parte del personal competente.

5. Uso de productos químicos registrados.
6. Técnica de limpieza y procedimientos.
7. Uso de productos sanitizantes y desinfectantes.
8. Persona

2.3.2 Técnicas de sanitización

Nos vamos a referir a la manera en que el sanitizante es aplicado, existen 5 formas de aplicar los desinfectantes, esto dependerá del análisis de riesgo realizado, la clasificación del área, superficie a desinfectar, el tipo de industria y el tipo de producto a utilizar. Pueden combinarse si se requiere.

Para cada técnica debe existir la documentación aprobada con su reto y validación, las instrucciones de uso y las medidas de seguridad para su manejo. Es recomendable tener la mayor información del desinfectante por parte del fabricante.

Las técnicas de sanitización son:

2.3.2.1. Inmersión. Consiste en preparar un volumen grande de desinfectante en un contenedor donde será sumergido el material a desinfectar por un periodo de tiempo ya establecido. Es más utilizado en el campo hospitalario con instrumental quirúrgico, en la industria pueden ser partes de equipos que se desensamblan. Se requiere un excelente enjuague y verificar que no queden residuos.

2.3.2.2. Aspersión. El método que mejor humecta las superficies. Consiste en la formación de gotas de muy diversos tamaños dependiendo del tamaño de salida del aspersor. Se basa en que, a mayor tiempo de contacto, la penetración de la pared celular será más eficiente. Este método ofrece muy buenos resultados cuando la superficie ha sido previamente limpiada. Si solamente se aplica el desinfectante de manera constante sin las limpiezas previas, habrá muchos residuos que afectaran a las superficies.

2.3.2.3. Trapeado. El trapeado utilizada la misma acción mecánica que con la limpieza. Permite hacer la desinfección de grandes superficies como paredes, techos, pisos. La aplicación siempre debe ser del fondo a la salida, y de arriba hacia abajo. La desventaja es que no humecta de manera uniforme la superficie como la aspersión. El exprimir el

pañó y la poca cantidad de producto que puede llevar el trapeador, puede comprometer la humectación de las superficies y el tiempo de contacto requerido.

2.3.2.4. Con paño. Consiste en utilizar un paño seco o pre saturado que se utiliza para humectar las superficies con un agente desinfectante. Siempre es necesaria una limpieza previa. Generalmente se asocia más con limpieza que con desinfección. Generalmente, la acción mecánica que se realiza ayuda a remover residuos. Al igual que con el trapeado, no humecta uniformemente las superficies. Se recomienda para muebles, y sitios donde otra técnica no permite hacer una adecuada humectación. Puede complementar a las de aspersión.

2.3.2.5. Nebulizado. Este método nos puede brindar grandes ventajas, ya que no requiere de grandes periodos de tiempo y distribuye uniformemente el desinfectante sobre las superficies. Se recomienda especialmente para descontaminar grandes áreas. Se generan partículas muy finas del desinfectante. Si no se combina con una limpieza mecánica efectiva, la presencia de residuos puede ser contraproducente, ya que puede deteriorar las superficies y aumentar la biocarga. Se deben evaluar muy bien los desinfectantes que se aplicaran de esta manera.

Un aspecto importante para ser considerado es el deterioro inevitable, pero se puede retardar si realizamos adecuadamente la limpieza de nuestras áreas y evitamos queden residuos. Es por ello por lo que se deben tomar las precauciones necesarias mediante pruebas en muestras de superficies, para:

- La evaluación química de la superficie con los activos del desinfectante.
- La remoción continua de los residuos que pueden causar deterioro.
- La evaluación de las mezclas de desinfectantes en la superficie o la mezcla de sus residuos. Prevenir la sobreexposición de las superficies a los activos desinfectantes.
- En las salas limpias de fabricación, debe evaluarse cada material por separado para demostrar la eficacia de un desinfectante determinado, es decir, se utilizará una muestra de cada superficie donde se evaluará el poder microbicida del sanitizante.

2.3.3 Evaluación de la limpieza

2.3.2.1 Evaluación visual: Es recomendado en áreas suficientemente visibles, y con un proceso de limpieza validado para cada producto. Este tipo de evaluación, puede hacerse entre lotes de un mismo producto con bajo riesgo de contaminación.

2.3.3.2 Muestreo de equipos: El muestreo de los equipos se realiza generalmente mediante un muestreo directo de la superficie (método de hisopo/toallita), un muestreo por enjuague o una combinación de ambos.

- I. Muestreo directo de la superficie (método del hisopo): El muestreo con hisopo consiste en limpiar la superficie de un equipo con un material específico humedecido con disolvente para recuperar los residuos de la superficie.
 - a) Se realiza el muestreo con hisopo/toalla en las zonas determinadas durante la evaluación de riesgos y específicamente en las zonas identificadas como más difíciles de limpiar. Además, se considera la posibilidad de tomar muestras representativas de grandes superficies. Es necesario especificar claramente las zonas más difíciles de limpiar en los protocolos pertinentes. La elección de las ubicaciones de los hisopos debe justificarse con datos de apoyo adecuados.
 - Al determinar las zonas más difíciles de limpiar, hay que tener en cuenta lo siguiente
 - la accesibilidad
 - la geometría del equipo
 - potencial de acumulación de residuos.
 - material de construcción
 - b) Debe especificarse el material que se utilizará para el hisopado y el medio de muestreo y disolvente.

El equipo de producción debe muestrearse de la misma manera que durante los estudios de recuperación en el laboratorio.

- Las medidas para garantizar la coherencia en los resultados pueden incluir: Procedimientos detallados,
- Calificación/certificación del personal encargado de la toma de muestras para demostrar la idoneidad y buena recuperación
- Formación en el trabajo y supervisión del personal de toma de muestras cuando se realicen las mismas
- equipo de fabricación

II. Muestreo por enjuague: El muestreo por enjuague implica contar con el último enjuague de las superficies del equipo correspondiente con una cantidad definida de un disolvente específico para eliminar los residuos. Se miden los niveles de residuos en el líquido de enjuague.

Las muestras de enjuague permiten el muestreo de una gran superficie y de sistemas que son inaccesibles o que no pueden desmontarse de forma rutinaria.

III. Muestreo con placebo: El muestreo con placebo es otra alternativa que puede utilizarse para evaluar la eficacia de la limpieza. El muestreo con placebo implica el procesamiento de un lote de placebo después de las actividades de limpieza y luego, analizar el placebo en busca de rastros del producto anterior.

Estas evaluaciones se realizan normalmente para complementar los estudios de hisopos y/o enjuagues.

2.3.3.3 Controles microbiológicos

I. Con ellos se debe garantizar que el diseño, el funcionamiento, la limpieza y el mantenimiento de los equipos y las instalaciones, controlen adecuadamente la carga biológica microbiológica, durante el proceso. Es fundamental centrarse en

las medidas preventivas más que en la eliminación de la contaminación una vez que se ha producido.

- II. Utilizar los principios de la gestión de calidad y riesgos para determinar
 - a) La necesidad de incluir la evaluación de la contaminación microbiológica y/o de endotoxinas microbiológicas como parte de las evaluaciones de verificación/calificación y evaluaciones continuas.
 - b) Las ubicaciones de muestreo en los equipos, que deben considerar aquellos lugares o materiales que puedan ser más propensos al crecimiento microbiano.
 - c) El tipo, la naturaleza y el alcance de un programa de control ambiental continuo programa medioambiental en curso.

- III. Los puntos de especial interés para las consideraciones microbiológicas son los siguientes:
 - a) Establecer un período máximo de tiempo que el equipo limpio puede mantenerse antes de su uso sin tener que volver a limpiarlo o desinfectarlo (lo que se conoce como tiempo de mantenimiento limpio). Demostrar que el tiempo máximo permitido de mantenimiento de la limpieza o tiempo de almacenamiento limpio permitido no da lugar a la proliferación microbiana.
 - b) Garantizar que se tienen en cuenta las evaluaciones microbiológicas, según los principios de gestión de riesgos, a la hora de evaluar la duración máxima de las campañas.

Nota: las consideraciones microbiológicas indicadas anteriormente pueden no ser aplicables para algunos productos API

- c) Hay que asegurar que no quede agua estancada en el equipo después de limpieza o uso. El equipo debe ser drenado/secado antes de su uso o almacenamiento.
- d) Asegurar la correcta aplicación de los procedimientos para la manipulación de mangueras. Las mangueras, como las de agua purificada, son un área conocida de posible contaminación microbiana.

Asegúrese de que cualquier límite microbiológico esté científicamente justificado.

Consideraciones importantes en la validación de limpieza

- ✓ Antes y después de arrancar una nueva área o un nuevo servicio.
- ✓ Nueva planta. Establecer los métodos de limpieza y sanitización de cada área.
- ✓ HVAC nuevo o en su reinicio después de un apagón.
- ✓ Personal nuevo o ingreso de materiales. La capacitación en BPF debe realizarse cuando menos una vez al año y cada vez que ocurran cambios en la normatividad o los procedimientos aplicables. Este programa debe indicar como mínimo: contenido, participantes, instructores, frecuencia y sistema de evaluación. Debe quedar evidencia de su realización.
- ✓ Emergencia de desalojo de las áreas (incendio, sismo). Verificar que se aplica adecuadamente el Procedimiento de Limpieza y Sanitización. Detectar posibles fallas de HVAC. Detectar posibles fallas en BPF por parte del personal.
- ✓ Establecer tiempos para aplicar el esporicida cuando se detecten bacterias u hongos formadores de esporas. Verificar que el rol de sanitizantes es el adecuado.
- ✓ Los sanitizantes y detergentes utilizados en áreas Clase A y B deben esterilizarse antes de su uso. El programa de sanitización de las áreas Clase A y B debe incluir un agente esporicida.

2.4 Importancia del proceso de desinfección.

El control de la contaminación microbiana es un reto importante para la industria farmacéutica y las agencias reguladoras, como se refleja en los datos de recolección de productos.

A modo de ejemplo, y basándonos en los reportes de la FDA entre 2002 y 2019, de productos retirados del mercado podemos mencionar:

2.4.1 Los productos retirados debido a presencia de bacterias de organismos del complejo *Burkholderia cepacia* (anteriormente *Pseudomonas cepacia*), así como hongos,

y que, junto con hallazgos de no esterilidad, fueron mayores en comparación con períodos de revisión anteriores.

2.4.2 La indicación de *B. cepacia* como un organismo preocupante.

2.4.3 Entre los productos estériles contaminados con hongos, el 95% fueron retirados por contaminación por *Aspergillus*.

2.4.4 La falta de garantía de esterilidad fue la razón más común para la retirada de medicamentos estériles durante el periodo. Las clases de medicamentos retirados iban desde soluciones salinas inyectables, hormonas, soluciones oftálmicas, agua para inyección, antibióticos, vitaminas, anestésicos, soluciones de aminoácidos, analgésicos, analgésicos opiáceos, narcóticos, vasopresores, etc.

2.4.5 La cuestión de la garantía de la esterilidad no sólo afecta a los productos farmacéuticos acabados, sino que hay muchos eventos trágicos en las últimas dos décadas debido a la contaminación microbiana de los medicamentos compuestos, tales como: pacientes que contrajeron meningitis bacteriana tras recibir la dosis de betametasona, meningitis fúngica por inyecciones de esteroides contaminadas (inyección epidural de acetato de metilprednisolona).

Estos incidentes provocaron varias muertes, ceguera, infecciones, además de la recolección de productos y enormes pérdidas económicas.

Los programas de salas limpias y de desinfección son una parte vital para mantener el control ambiental en el entorno de la fabricación de productos farmacéuticos. El éxito de estos programas depende de la selección de los desinfectantes adecuados, capaces de inactivar o matar las células vegetativas y las esporas bacterianas y fúngicas.

Sin embargo, los desinfectantes varían; mientras que algunos son de amplio espectro, otros son esporicidas o viricidas, y su eficacia depende de una gran variedad de factores, desde el tipo de microorganismo hasta la concentración y el tiempo de contacto del desinfectante; el método de aplicación del desinfectante y la temperatura ambiente o el pH.

Por lo tanto, las pruebas de eficacia de los desinfectantes, en las que se controlan estos factores, son una parte esencial de la creación de una estrategia eficaz de control ambiental de las salas blancas farmacéuticas.

El objetivo de estas estrategias es evitar la generación de resistencia a los desinfectantes

Esta resistencia puede ser consecuencia de diferentes “estrategias” que los microorganismos desarrollan y que pueden darse en forma inducible o permanente:

- Alteración de los blancos moleculares (modificaciones de las moléculas blanco)
- Inactivación de agentes por reacciones covalentes (ejemplo, Agentes oxidantes con mucílagos producidos por el germen), o enzimáticas (Formaldehído reductasa)
- Formación de Biopelículas (biofilm)
- Disminución del agente en el sitio de acción ya sea por expresión de Bombas de Eflujo (clorhexidina/ sales cuaternarias de amonio), o alteración de estructuras de la membrana externa como la disminución de porinas.

Cualquiera de estos eventos resultará en un aumento de la resistencia al agente antimicrobiano.

Tomando en cuenta lo anterior y los estudios de frecuencia de limpieza y sanitización, se puede establecer un calendario anual para cada área de la planta con su adecuado rol de desinfectantes, maximizando así el proceso de desinfección en el sitio.

3. DESINFECTANTES

3.1 Tipos de desinfectantes

Existe una amplia variedad de agentes químicos con capacidad microbicida, y es necesario contar con toda la información técnica, la cual debe ser proporcionada por el fabricante. Cada uno tiene un espectro de actividad antimicrobiana, lo cual nos permitirá no sólo elegir el adecuado, si no también establecer el rol que se requiere.

3.1.1 Alcoholes

Los alcoholes más usados son el etanol y el isopropanol, ambos se usan al 70 % dado que a esa concentración expresan su mayor poder desinfectante. Ejercen su acción dañando membranas celulares y desestabilizando proteínas.

El espectro de acción de estos agentes es intermedio, no son esporicidas, pero son esporostáticos.

En cuanto a las diferencias entre ellos, el Isopropanol tiene más acción bactericida y el etanol más acción viricida.

Presentan sinergia con otros agentes, como amonios cuaternarios, biguanidas, álcalis y ácidos.

Son muy usados en antisepsia y desinfección, conservación y limpieza, en este último caso utilizado luego del enjuague favorece y acelera el secado. Si analizamos su toxicidad, estos agentes son irritantes, volátiles e inflamables.

Desorganizan la bicapa lipídica de la membrana celular, provocando su permeabilización y degradación. Así como desnaturalización de algunas proteínas por hidratación cuando están preparados al 70%.

3.1.2 Aldehídos

3.1.2.1 Formaldehido:

Fue y es ampliamente utilizado.

Su acción se ejerce por alquilación de grupos C=O, SH, -OH, NH₂ de proteínas y/o de ácidos nucleicos.

Es un agente de alto nivel, por lo cual tiene acción esporicida y puede considerarse un esterilizante químico.

Su espectro de uso es amplio, desde su uso como agente esterilizante en una concentración al 20% y por un tiempo de varias horas; desinfección de alto nivel (20 minutos), desinfectante de superficies (8%), desinfección de ambientes (5g/ m³ / 4 h) (aplicable a la desinfección de cabinas de flujo laminar) o como conservador al 0.1 %. En cuanto a este último uso en nuestro medio está prohibido en sanitarios, pero su uso está permitido en cosméticos que se utilizan con posterior enjuague.

Sus puntos negativos los da su patrón de toxicidad, dado que es irritante, hipersensibilizante, y fundamentalmente fue catalogado por la OMS como probablemente carcinógeno para el hombre.

Cuando se usa para la desinfección de grandes áreas o equipos se deben usar los elementos de seguridad adecuados para evitar la exposición de la piel y su inhalación. Cuando se usa para la desinfección ambiental en forma gaseosa (aire o cabinas de flujo laminar), el área a tratar debe ser evacuada durante todo el tratamiento y antes de permitir el ingreso de personas, debe neutralizarse con vapores de amoníaco y/o ventilarse perfectamente.

Sus puntos favorables son su bajo costo, su disponibilidad en el mercado, su potencia y el hecho que la interferencia por dureza y materia orgánica es mínima.

3.1.2.2 Glutaraldehído:

Al igual que el agente anterior el Glutaraldehído ejerce su acción frente a diferentes grupos funcionales de macromoléculas, pero además al ser una molécula divalente (con dos grupos reactivos), tiene una fuerte unión a grupos amino de pared y membrana celular, e inhibe funciones como el transporte de electrones. Sus dos funciones aldehído tienen la distancia óptima para producir entrecruzamiento en la cadena de DNA.

Es un desinfectante de alto nivel. Su principal uso es como esterilizante químico al 2% y por un tiempo de contacto que va de 6 a 12 h, es muy usado como desinfectante de alto nivel (2%, 20 minutos de acción) y está siendo usado como agente conservador en productos sanitarios.

En cuanto a su toxicidad es menos tóxico que el formol, pero en algunas personas puede producir hipersensibilidad.

A consecuencia de sus dos grupos reactivos, debe extremarse la limpieza previa, dado que puede fijar materia orgánica a las superficies tratadas.

Reacciona alquilando proteínas de la pared celular (grupos amino, hidroxilo, carbonilo y sulfhidrilo) generando entrecruzamientos irreversibles y su desnaturalización. Reaccionan con algunas enzimas inactivándolas, como ATPasa.

3.1.3 Halógenos

En esta categoría ubicamos a agentes que generan cloro activo como: Hipoclorito de sodio, Dióxido de cloro, Dicloroisocianurato, Cloramina T, etc.

En todos los casos, dado que actúan a través del cloro activo, son productos oxidantes que ejercen su efecto oxidando grupos funcionales de macromoléculas.

Son agentes de alto nivel, con una multiplicidad de usos:

Concentración sugerida	Efecto
más de 5000 ppm (mg/L) de cloro	Desinfección de alto nivel
250-500 ppm	Desinfección fuerte
250 ppm	Desinfección de superficies, sistemas de diálisis, o como antiséptico
50 ppm	Sanitizante
0,2 a 0,5 ppm	Potabilizante de agua

Son agentes que se afectan poco por la dilución, no son afectados por la dureza del agua, pero son inactivados por materia orgánica y agentes reductores, tienen dependencia del pH y son inestables por encima de 50°C (más estables a temperatura ambiente, pero su concentración decae con el tiempo), pero el factor principal que limita su uso es que es corrosivo para superficies metálicas.

Características toxicológicas: Son agentes irritantes y se discute la importancia de los productos tóxicos que se forman al ser usados como potabilizantes de aguas naturales sin tratamiento previo.

Otra subcategoría dentro de los Halógenos son los agentes iodados, representado por las tinturas de Iodo o más comúnmente usados, Iodóforos como la Iodo povidona.

Al ser muy oxidantes, desnaturaliza la pared y membrana celular, provocando la salida de los materiales intracelulares. Reacciona con proteínas y las desnaturaliza.

Estos agentes también son de alto nivel, se usan ampliamente como antisépticos, incluso prequirúrgicos y en la desinfección de agua. También existen formulaciones para la

desinfección de superficies industriales, fundamentalmente industrias agrícolas y de alimentos.

3.1.4 Acido Peracético

Es un agente oxidante cuya función se ejerce por oxidación de grupos funcionales de proteínas y ácidos nucleicos, y por desnaturalización proteica.

Es un potente agente de alto nivel, siendo esporicida en concentraciones de 0,3 %.

Al ser oxidante a su acción desinfectante se suma la acción desodorizante, por lo cual es ampliamente usado en la desinfección de objetos y superficies.

Ventajas de uso: La principal es que se degrada a compuestos inocuos como son el agua y el ácido acético, es poco afectado por la materia orgánica y la dureza, a concentraciones de uso resulta no tóxico ni irritante (salvo ojos). Las soluciones concentradas deben manipularse con cuidado dado que estas penetran la piel produciendo quemaduras y los vapores emanados son sumamente irritantes.

3.1.5 Peróxido De Hidrogeno

Es un elemento oxidante y como tal su acción se ejerce por oxidación de grupos funcionales de macromoléculas incluyendo C=C de lípidos; en fase gaseosa genera el radical libre OH*. Es un agente de alto nivel, usado a concentraciones mayores al 10 % tiene acción esporicida, y al ser oxidante se le suma el efecto desodorizante. Es ampliamente usado en la antisepsia y limpieza de heridas, desinfección de objetos y superficies y esterilización de material crítico. La ventaja principal es que luego de ejercer la su acción se degrada a compuestos totalmente inocuos como lo son el oxígeno y el agua.

Reaccionan con los grupos sulfhídrido de las proteínas formando puentes disulfuro, y con grupos amino. Reacciona con los lípidos de la membrana y con los ácidos nucleicos.

3.1.6 Agentes Fenólicos

Son agentes de espectro de acción intermedia, más activos frente a gram positivos, con algo menos de actividad frente a Pseudomonas y hongos, pero con fuerte acción frente

a Micobacterias. Su modo de acción consiste en producir un daño en la membrana, que aumenta la permeabilidad a los protones que produce un desacople de la fosforilación oxidativa; a concentraciones mayores a esta acción se le suma la coagulación de proteínas citoplasmáticas. Se antagonizan con cationes divalentes (aguas duras) y medio alcalino, pero resisten la carga de materia orgánica. Son sinérgicos con EDTA. El agente tipo es el Fenol habitualmente usado a 5 %; su uso esta relegado por ser irritante y su olor penetrante. Son más utilizados sus derivados: Hexaclorofeno, O-Fenilfenol, y Cloroxilenol; participan en la formulación de diversos jabones y antisépticos; el O-fenilfenol es el componente más utilizado de los desinfectantes de ambiente en aerosol. Estos agentes también son agentes hipersensibilizantes, particularmente para los infantes. Este grupo en general está siendo regulado dado su toxicidad ambiental y su dificultosa biodegradación.

Actúan sobre enzimas metabólicas, reaccionando con su grupo amino y las desnaturaliza. Lesiona la pared y membrana celular, provocando su ruptura y fuga de material intracelular

3.1.7 Cuaternarios de amonio.

Es el grupo que más se desarrolló en los últimos años siendo los más utilizados en diversas aplicaciones. Su acción se ejerce en varias etapas, la primera es la adsorción a la pared bacteriana, luego reacciona con la membrana plasmática conduciendo a su desorganización, con la consecuente pérdida de solutos de bajo peso molecular; la acción prosigue con degradación de macromoléculas y lisis celular.

Si bien son agentes de bajo nivel (pueden tener actividad esporostática y micobacteriostática), son agentes que poseen muy baja toxicidad y su molécula le confiere propiedades deterativas que ayudan el proceso de limpieza.

Su acción es antagonizada por materia orgánica, compuestos aniónicos, jabones, nitratos, Lecitina, ácido bórico y agua dura (cationes divalentes). Si actividad se sinergiza en formulaciones con EDTA, Alcoholes y Clorhexidina.

Entre los derivados más utilizados encontramos al Benzalconio, Benzetonio, Cetrimida, Lapirio y derivados de última generación que son mezclas de cuaternarios.

Entre las aplicaciones se encuentran la antisepsia preoperatoria, antisepsia de mucosas, antisepsia de manos, desinfección de superficies no críticas y la desodorización; el benzalconio es muy utilizado en los productos de higiene y desinfección domestica e institucional.

Actúa a nivel de la membrana celular, ya que son atraídos por su carga negativa. Interactúa con los grupos fosfato de los fosfolípidos alterando el potencial de membrana, por lo que hay ingreso de agua y salida de moléculas de elevado peso molecular.

3.1.8 Biguanidas

Su acción la ejercen en un primer paso sobre las envolturas celulares, dañando la funcionalidad de la membrana plasmática y luego penetra y coagula el citoplasma. Son agentes de nivel medio con acción más reducida sobre *Pseudomonas* y *P. vulgaris*.

El agente tipo es la clorhexidina, si bien en el mercado hay derivados poliméricos más modernos como el PHMB (Poliexa metilen biguanido).

La clorhexidina es muy usada en desinfección en general fundamentalmente en la desinfección de manos donde por su adsorción a la piel presenta acción residual. Los derivados poliméricos son muy usados en desinfección en general, desinfección de natatorios y desinfección de superficies, aun las que se encuentran en contacto con alimentos dado a su escasa toxicidad.

Los biguanidos presentan acción a concentraciones de 200 mcg/ ml.

Su accionar se ve afectado por agentes aniónicos, no iónicos, carbonatos y además se adsorbe sobre gomas, alginatos, derivados de la celulosa y sólidos finamente divididos. Son sinérgicos con alcohol y cetrimida.

3.2 Selección de desinfectantes

3.2.1 Cuadros comparativos

De manera resumida podemos visualizar en la siguiente tabla los mecanismos de actividad desinfectante contra las células microbianas.

Tabla No.1. Mecanismo de actividad desinfectante contra células microbianas

OBJETIVO	DESINFECTANTE
Pared celular	Formaldehído, hipoclorito y mercuriales
Membrana citoplasmática, acción sobre el potencial de membrana	Anilidas y hexaclorofeno
Enzimas de membrana, acción en cadena de transporte de electrones	Hexaclorofeno
Acción en ATP	Clorhexidina y óxido de etileno
Acción en enzimas con grupos -SH	Óxido de etileno, glutaraldehído, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, yodo y mercuriales
Acción sobre la permeabilidad general de la membrana	Alcoholes, clorhexidina y compuestos cuaternarios de amonio
Contenido celular, coagulación general	Clorhexidina, aldehídos, hexaclorofeno y compuestos cuaternarios de amonio
Ribosomas	Peróxido de hidrógeno y mercuriales
Ácidos nucleicos	Hipocloritos
Grupos thiol	Óxido de etileno, glutaraldehído, peróxido de hidrógeno, hipoclorito, mercuriales
Grupos amino	Óxido de etileno, glutaraldehído e hipoclorito
Oxidación general	Óxido de etileno, glutaraldehído e hipoclorito

Tabla No. 2. Clasificación según nivel de acción

NIVEL	ACTIVO FRENTE	COMPUESTOS
Alto	Esporas bacterianas Micobacterias Virus no lipídicos Hongos y Levaduras Formas vegetativas Virus lipídicos	Glutaraldehído 2% Formol 20% Peróxido de hidrógeno Cloro (>5000ppm)
Medio	Micobacterias Virus no lipídicos Hongos y Levaduras Formas vegetativas Virus lipídicos	Alcoholes Cloro (<5000ppm) Yodóforos Clorhexidina Fenólicos
Bajo	Hongos y Levaduras Formas vegetativas Virus lipídicos	Amonios cuaternarios Anfóteros Mercuriales

3.2.2 Características

3.2.2.1 Selección de un antiséptico para la desinfección de la mano y el sitio quirúrgico.

Las manos y los sitios quirúrgicos están desinfectados en un entorno hospitalario para reducir la flora residente y eliminar la flora transitoria (por ejemplo, *Streptococcus pyogenes*) y *S. aureus* resistente a la meticilina y *P. aeruginosa* que han estado implicados en las infecciones intrahospitalarias.

Se ha demostrado que el uso de antisépticos para desinfectar las manos es más eficaz que el jabón y el agua para reducir los recuentos de bacterias en la piel; uso antiséptico repetido reduce aún más estos recuentos.

Estos principios pueden aplicarse a los operadores de salas limpias de la industria farmacéutica.

Los antisépticos comunes incluyen 4% clorhexidina, 10% povidona-yodo, 3% hexaclorofeno, 70% alcohol isopropílico, y 0.5% clorhexidina en 95% alcohol.

3.2.2.2 Selección de un desinfectante para su uso en un entorno de fabricación farmacéutica

Al seleccionar un desinfectante para su uso en superficies en una zona de fabricación farmacéutica, deben tenerse en cuenta los siguientes puntos:

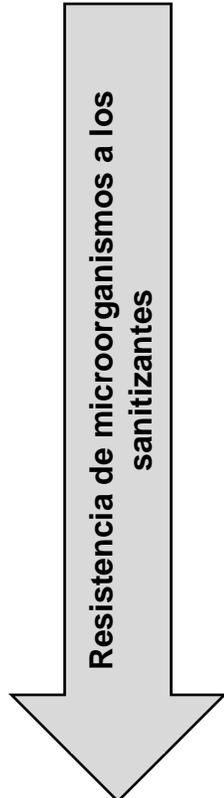
a) El número y los tipos de microorganismos por controlar.

Es importante conocer la biocarga encontrada en el equipo, así como determinar si existe biopelícula, ya este dato, debe incluirse en la matriz de riesgo y así determinar, la agresividad con la que debe ser seleccionado el desinfectante.

- i) Resistencia intrínseca del microorganismo: Es necesario recordar que diferentes microorganismos tienen diferente sensibilidad a un mismo agente. Esto se debe a la resistencia intrínseca (resistencia innata de un microorganismo) de cada grupo microbiano, la cual puede deberse a diferentes mecanismos. (8)

La gráfica siguiente nos resume algunos ejemplos de resistencia intrínseca a desinfectantes. Esta diferencia de susceptibilidad nos permite ordenar a los diferentes grupos microbianos según su resistencia:

Tabla No.3. Ejemplos de resistencia intrínseca de algunos microorganismos a los sanitizantes.



TIPO DE MICROORGANISMOS	EJEMPLOS
Priones	PrPC, PrPSc
Esporas bacterianas	<i>Bacillus subtilis</i> y <i>Clostridium sporogenes</i>
Micobacterias	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
Virus con envoltura no lipídica	Poliovirus y rinovirus
Esporas fúngicas y hongos filamentosos y levaduras vegetativas	<i>Trichophyton</i> , <i>Cryptococcus</i> y <i>Candida spp.</i>
Bacterias vegetativas Gram negativas	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Burkholderia cepacia</i> , <i>Salmonella spp</i> y enterobacterias
Bacterias vegetativas Gram positivas	<i>Staphylococcus aureus</i> y <i>S. epidermidis</i> , <i>Streptococcus spp.</i>
Virus con envoltura lipídica	Virus herpes simple, virus de hepatitis B y VIHa

Tabla No.4. Resistencia intrínseca

TIPO DE RESISTENCIA		EJEMPLO	MECANISMO
Impermeabilidad	Gram negativos	Triclosán Amonios cuaternarios	La membrana externa representa una barrera que impide el ingreso del agente. Bacilos Gram negativos G (-) no permiten el ingreso debido a la presencia de cápsula o glicocálix.
	Micobacterias	Amonios cuaternarios Clorhexidina	La pared de composición compleja y cerosa (altamente hidrofóbica) impide la entrada. No penetran la capa de dipicolinato de calcio de las esporas de bacilos Gram positivos [G (+)].
	Esporas	Amonios cuaternarios, Fenólicos Clorhexidina	Las envolturas y la corteza de la spora impiden el ingreso
	Gram positivos	Clorhexidina	Pared, presencia de mucopolisacáridos
Inactivación		Clorhexidina	Ruptura enzimática de la molécula

En el caso de la industria farmacéutica, dada la baja carga microbiana y el tipo de proceso (concentración adecuada del agente, por tiempos cortos con posterior enjuague), hay escasas posibilidades de una presencia selectiva que determine un aumento de la resistencia de los microorganismos contaminantes.

Sin embargo, existe una situación común en ciertos sistemas (como los sistemas de distribución de agua, con limpieza deficiente y restos de humedad), donde se

generan biopelículas, estas aumentan hasta 100 veces la resistencia y para su remoción requieren tratamiento enzimático y/o acción mecánica.

Debido a la resistencia de los microorganismos, que se puede generar en una planta de manufactura, es la importancia de la validación de la limpieza y desinfección consecuente.

De los monitoreos realizados se aíslan los microorganismos nativos y se verifica que no hayan desarrollado resistencia contra los sanitizantes en uso.

Tabla No.5. Algunos microorganismos hallados en desinfectantes

MICROORGANISMOS HALLADO	RECuento (UFC/ml)
<i>Escherichia coli</i>	ND
<i>Burkholderia cepacia</i>	1.0×10^5
<i>Salmonella spp</i>	ND
<i>Alcaligenes fecalis</i>	2.8×10^4
<i>Citrobacter freundii</i>	480

Se ha observado contaminación de soluciones desinfectantes, las cuales en su mayoría eran soluciones acuosas de amonios cuaternarios de hasta 1500 ppm (mg/l), y en cuanto a los microorganismos contaminantes muestran alta dependencia al sustrato.

Esto nos recuerda lo visto anteriormente, en cuanto al cuidado en la preparación de diluciones de uso de los desinfectantes y lo crítico que resulta este punto.

De ahí la importancia del conocimiento de la biología de los microorganismos, y la consecuente selección adecuada del desinfectante.

b) El espectro de actividad de los agentes disponibles comercialmente: Bacteriostático, bactericida, fungicida, viricida, esporicida.

Cuando trabajamos con desinfectantes o mejor dicho con agentes antimicrobianos de uso externo, tenemos dos tipos de respuestas o efectos:

i) Los microorganismos presentes, en contacto con agente aplicado, cesan su replicación (su número permanece constante), sin perder su viabilidad (sin morir). Es lo que llamamos efecto BIOSTATICO (BACTERIOSTATICO, FUNGISTATICO, BIOSTATICO)

ii) Los microorganismos presentes, al ponerse en contacto por cierto tiempo con el agente aplicado, pierden su viabilidad, con lo cual su número se reduce significativamente, es decir hay muerte microbiana.

Esto es lo que llamamos efecto BIOCIDA (BACTERICIDA, FUNGICIDA, VIRICIDA). Dentro de estos procesos de muerte microbiana recordemos:

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

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

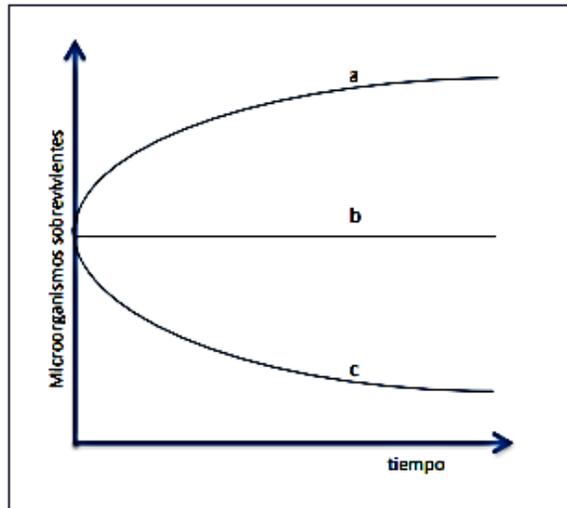
Esterilización: Es la destrucción de todos los microorganismos presentes en una superficie, convenientemente acondicionada para evitar su recontaminación y mantener su condición de estéril.

Sanitización: Es la reducción de microorganismos a niveles seguros, ésta liga al concepto de limpieza. Cuantitativamente se admite como umbral de acción de un sanitizante la destrucción del 99,9% (3 logaritmos) de la carga inicial.

La diferencia entre el efecto Biocida y el efecto Biostático puede verse en el Gráfico 1.

Gráfico 1. Efecto Biocida vs efecto Biostático

Donde



a=Crecimiento microbiano

b= Efecto biostático

c= Efecto biocida

Tabla No. 6 Principales Sanitizantes usados en la industria farmacéutica

ENTIDAD QUÍMICA	CLASIFICACIÓN	EJEMPLO
Aldehídos	Esporicida	Glutaraldehído al 2%
Alcoholes	Agente antiviral, antiséptico y antiviral de propósito general	Alcohol isopropílico al 70%, alcohol etílico al 70 %
Cloro e hipoclorito de sodio	Esporicida y sanitizante	Hipoclorito de sodio al 0.5%
Derivados fenólicos	Sanitizante	500 μg por g de Clorocresol 500 μg por g de cloroxyleneol
Peróxido de hidrógeno	Esterilizante en fase vapor, agente esporicida, antiséptico	4 μg por g de H ₂ O ₂ vapor, solución del 10 % al 25 %, solución al 3 %
Ácido peracético	Esterilizante	Ácido peracético al 0.2 %
Cuaternarios de amonio	Sanitizante	Cloruro de benzalconio
Origen natural	Sanitizante.	Compuestos terpénicos. Extractos de cítricos
β -propiolactona	Esporicida	Propiolactona
Ozono	Agente esporicida	8% Gas en peso
Biguanidos sustituidos	Agente antiséptico	0.5% Gluconato de clorhexidina

c) La naturaleza y concentración de los biocidas.

Qué tipo de sanitizante será el más efectivo considerando, eficiencia, reacciones y efectos colaterales, toxicidad, regulaciones, facilidad de manejo y costo.

Es fundamental para el empleo exitoso de los desinfectantes, una comprensión del efecto de la concentración desinfectante en la reducción microbiana.

Una idea del del log del tiempo de muerte de una población microbiana realizada por un desinfectante, es una línea recta con la pendiente de la línea denominado exponente de concentración, n .

La relación puede expresarse de la siguiente manera:

$$n = \frac{(\log \text{ del tiempo de muerte en la concentración } C_2) - (\log \text{ del tiempo de muerte en la concentración } C_1)}{(\log C_1 - \log C_2)}$$

En donde:

C_1 = Concentración de desinfectante más alta.

C_2 = Concentración de desinfectante más baja.

Las amplias diferencias en los exponentes de concentración, n , tienen consecuencias prácticas en la selección del uso de dilución de diferentes desinfectantes y en el uso de dilución para neutralizar un desinfectante en las pruebas de desinfectante-eficacia y el monitoreo microbiano rutinario del entorno de fabricación.

Por ejemplo, el cloruro mercuríco tiene un exponente de concentración de 1, por lo que una dilución de 3 veces reducirá la actividad desinfectante en 3^1 (o en un tercio), mientras que el fenol con un exponente de concentración de 6 tendrá una reducción de 3^6 (o 729 veces) en la actividad desinfectante.

Los desinfectantes con un mayor exponente de concentración o coeficiente de dilución pierden rápidamente actividad cuando se diluyen.

Los exponentes de concentración de algunos desinfectantes figuran en la tabla No.7

Tabla No.7 Exponentes de concentración de antisépticos comunes, desinfectantes y esterilizantes

Desinfectante	Exponentes de concentración
Peróxido de hidrógeno	0.5
Hipoclorito de sodio	0.5
Cloruro de Mercuric	1
Clorhexidina	2
Formaldehído	1
Alcohol	9
Fenol	6
Compuestos de amonio cuaternario	0.8 a 2.5
Alcoholes alifáticos	6.0 a 12.7
Compuestos fenólicos	4 a 9.9

Es necesario que toda la información respecto del sanitizante, sea suministrada por el fabricante o distribuidor para iniciar la documentación y pruebas necesarias, datos importantes:

- i. Nombre de sanitizante.
- ii. Formulación.
- iii. No. De lote.
- iv. Fechas de caducidad.
- v. Condiciones de almacenaje.
- vi. Toxicidad
- vii. Concentración de uso.
- viii. Tiempo de contacto.
- ix. Incompatibilidad.

- x. Medidas seguridad requeridas
- xi. Aprobaciones por las regulaciones mexicanas
- xii. El desinfectante apoyado por los registros de la EPA.

Verificar que el desinfectante esté aprobado por la EPA de acuerdo a la lista actualizada que puede ser consultada en:

[List N Tool: COVID-19 Disinfectants | US EPA](#)

En donde podemos obtener la siguiente información:

EPA Registration Number	Active Ingredient(s)	Product Name	Company	Follow the disinfection directions and preparation for the following virus	Contact Time (in minutes)	Formulation Type	Surface Type	Use Site
10190-14	Quaternary ammonium	Penetone XF-7117	Penetone Corp	Porcine circovirus	10	Dilutable	Hard Nonporous (HN)	Institutional
10324-105	Quaternary ammonium	Maquat 128-PD	Mason Chemical Company	Human coronavirus	10	Dilutable	Hard Nonporous (HN)	Healthcare; Institutional; Residential
10324-108	Quaternary ammonium	Maquat 256-MN	Mason Chemical Company	Human coronavirus	10	Dilutable	Hard Nonporous (HN); Food Contact Post-Rinse Required (FCR)	Healthcare; Institutional; Residential

- d) Método de aplicación y tiempo de contacto.
- e) Incompatibilidades con superficies. Si causa algún daño como corrosión, decoloración, etc. a las superficies donde será aplicado.

Tabla No.8. Incompatibilidades con diversos materiales.

ACTIVO	ACERO	COBRE	CONCRETO	PLÁSTICO
Aldehído	-	-	-	-
Alcohol	-	-	-	X
Cítrico	-	-	-	X
Clorado	X	X	-	-
Cuaternario	-	-	-	-
Fenólico	-	-	-	X
Peróxido	X	X	-	X
Peracético	-	-	-	X
β -Propio-lactona	-	-	-	-

El deterioro de las superficies de las instalaciones y equipos es algo natural que ocurre al estar en contacto frecuente con los desinfectantes. El deterioro puede presentarse de diversas formas.

- Corrosión. Se asocia principalmente con los metales, y se aprecia como óxido o picaduras. Esto se debe a la presencia de impurezas, las cuáles reaccionan con el activo del desinfectante. Por ello es necesario realizar pruebas en muestras estandarizadas de las superficies para verificar el posible daño que puede ocasionarse a la estructura. También pueden sumergirse muestras estandarizadas de las superficies durante varios días en la solución lista para usar y observar.
- Secado. Puede ocurrir en superficies porosas y no porosas suaves, como vinilo, epóxico, etc. El activo penetra y va desecando el material.
- Decoloración y manchado. Se asocia principalmente con los vehículos de las soluciones limpiadoras y desinfectantes. Los activos que generan manchas son generalmente los fenólicos y/o iodados.

- f) Incompatibilidades químicas que pueden afectar la actividad microbicida de los desinfectantes.

Revisar la Hoja de Seguridad y verificar con que sustancias puede causar reacciones violentas, y de ser posible, evaluar qué sucede si llegasen a combinarse sanitizantes y agentes de limpieza, y cómo afecta su actividad microbicida. La temperatura y pH de uso.

Tabla No.9. Incompatibilidades entre diversos activos desinfectantes

ACTIVO	ALDEHÍDO	ALCOHOL	CÍTRICO	CLORADO	CUATERNA RIODE	FENÓLICO	PERÓXIDO	PERACÉTIC	B-PROPIO LACTONA
Aldehído		-	-	X	X	-	X	X	-
Alcohol	-		-	X	-	-	X	X	-
Cítrico	-	-		-	-	-	X	-	-
Clorado	-	-	-		X	X	X	X	X
Cuaternario	X	-	-	X		-	X	X	X
Fenólico	-	-	-	X	-		X	X	X
Peróxido	X	X	X	X	X	X		-	X
Peracético	X	X	X	X	X	X	-		X
β-Propio-lactona	-	-	X	X	-	X	X	-	

- g) Metodología para determinar residuos que puedan generar una contaminación cruzada. HPLC, espectrometría, titulación, conductividad eléctrica, TOC, etc.
- h) Toxicología. Para tener el equipo de protección necesario durante su aplicación y actuar en caso de un accidente. Se debe contar con toda la información al respecto del producto. Información que debe proporcionar el fabricante de acuerdo al sistema globalmente armonizado de seguridad de sustancias químicas

i) Estabilidad Química y caducidad.

La estabilidad química determina que el desinfectante a la concentración de uso sugerida pueda mantener su efectividad microbiana por varios días una vez preparada. Es muy importante contar con el apoyo técnico del fabricante o distribuidor, quien debe proporcionar toda la información necesaria y el soporte para las pruebas que se deben realizar.

Caducidad del producto preparado

La evaluación proporcionará el tiempo en que el activo desinfectante sigue manteniendo su efecto biocida y en la concentración adecuada. Una vez abierto el envase original, inicia la caducidad del producto, independientemente de la fecha asignada por el fabricante.

Si un desinfectante va a prepararse y almacenarse para uso posterior, se debe evaluar su efectividad biocida durante la vigencia asignada.

Los envases donde se va a contener la solución deben estar limpios y libres de otros productos químicos y evitar reacciones.

La fecha de caducidad se determinará realizando el reto microbiano a intervalos establecidos por el laboratorio de microbiología, y los resultados nos indicarán la vigencia máxima para su uso. No se debe establecer como fecha de caducidad el último intervalo donde el reto microbiano fue aprobado, de esta manera evitamos que los usuarios lo almacenen y lo usen.

Se recomienda siempre preparar el desinfectante cuando vaya a ser utilizado.

Para estimar el período de caducidad se deberán efectuar estudios que la soporten como podrían ser:

- Medición de la concentración del agente activo.
- Evaluar la aparición de microorganismos contaminantes

- Realizar la prueba de eficacia de desinfectantes en en los diferentes intervalos sugeridos.
 - En general se preparan solución suficiente para 24 horas en producción y en laboratorio para una semana.
 - Para áreas estériles es necesaria la preparación diaria, con las precauciones y directrices aprobadas en la validación de desinfectantes.
- j) La cantidad de compuestos orgánicos en la superficie que pueden inactivar al desinfectante.
- k) La rotación de desinfectante planificada, y las medidas que deben tomarse para evitar la contaminación de los productos farmacéuticos por el desinfectante.

Es necesaria la rotación de desinfectantes para cumplir con las directivas vigentes en GMP, en concordancia con las directivas de la FDA, que se basan en la suposición de que los desinfectantes se comportan como los antibióticos, desde el punto de vista de generación de resistencia con el tiempo, como lo explicamos anteriormente. Sin embargo, cuando el proceso de desinfección es muy enérgico (cuando está bien realizado) no deja una población de supervivientes lo suficientemente alta como para que se establezca una población resistente.

Entonces se supone que, la probabilidad de que la flora contaminante de una superficie se vuelva resistente al proceso de desinfección, si éste es adecuado, es muy baja si es que existe.

Los estudios que demuestran adaptación microbiana a desinfectantes están realizados estudiando el comportamiento de los microorganismos frente a concentraciones de agente muy inferiores a las que se usan en la práctica y esa adaptación, fenotípicamente se evidencia en el corrimiento de la Concentración Inhibitoria Mínima, que es inferior a la concentración bactericida.

Los que sí existen, son errores de aplicación y la contaminación de las soluciones diluidas de los desinfectantes.

De hecho, se observa que las contaminaciones de equipos en planta han sido secundarias a fallas en el proceso de lavado previo a la sanitización y/o al diseño de los equipos, que dificultaba el lavado, con lo cual la desinfección perdía efectividad debido a la suciedad acumulada y a la comunidad microbiana desarrollada en la misma.

Si bien muchos autores apoyan la idea de que si un desinfectante funciona bien no debería ser cambiado, debido a las normativas vigentes y a una posible contingencia, es necesario tener más de un desinfectante disponible entre nuestras herramientas.

3.2.3 Aspectos que influyen en su efectividad

Tabla No.10 Factores a considerar en la selección de un desinfectante

FACTORES	DESCRIPCIÓN / MECANISMO
Concentración de uso.	En caso de adquirir el producto concentrado, especificar la concentración óptima de acuerdo con el reto microbiano realizado.
Tiempo de contacto.	Durante el reto microbiano, deben evaluarse en periodos de 5 a 20 minutos de contacto.
Temperatura del proceso	Un aumento de la temperatura en desinfección química siempre favorece la acción del desinfectante disminuyendo los tiempos de contacto y aumentando por ende la eficiencia. En procesos de desinfección por calor la temperatura es una medida directa de la energía empleada en el proceso.
Espectro de acción.	La actividad antimicrobiana intrínseca del producto. Bacteriostático, bactericida, fungicida, viricida, esporicida.
Método de aplicación.	Si se aplica por contacto, con aspersor o con algún equipo en particular. La validación debe realizarse de acuerdo con el método utilizado.
Preparación de las diluciones	La dilución del producto está relacionada directamente a la concentración del agente activo, la cual, relaciona directamente con la eficiencia del proceso de desinfección. Tanto el agua, como los recipientes utilizados para llevar el producto a la dilución de uso no deben aportar microorganismos. La Filtración esterilizante en caso de ser necesario (Para evitar vehiculizar esporas bacterianas viables). Muy importante la caducidad de las diluciones: Idealmente emplear diluciones frescas. Como esto en la práctica no siempre es posible, si se va a usar una dilución más de un día, se debe fijar un período de caducidad,

FACTORES	DESCRIPCIÓN / MECANISMO
El tipo y el número de microorganismos presentes.	Verificar si es bactericida, fungicida y/o esporicida bacteriano. La biocarga donde será aplicado.
La naturaleza de la superficie a la que se aplica el desinfectante	Si cubre perfectamente la superficie, si se absorbe(sin dejar residuos), si daña o causa alguna alteración al material(corrosión), Contacto entre la superficie y el agente(La solución del agente debe "mojar" completamente la superficie a tratar, si la superficie es demasiado hidrofóbica deberá usarse una formulación que reduzca la tensión superficial, para que el agente se distribuya en forma homogénea, y cubra perfectamente la superficie contaminada), Presencia de humedad en el área a desinfectar, teniendo como base que la humedad es precursor de contaminación microbiana.
Dureza del agua.	Cantidad de sales presentes en el agua que será utilizada para su dilución." Pueden formar quelatos con algunos compuestos. Estabiliza membranas.
Materia orgánica.	Sustancia que puede interferir la actividad antimicrobiana al ser aplicada. Adsorción del desinfectante. Protección física del microorganismo. Reacción con el agente antimicrobiano. Formación de compuestos insolubles.
Fuerza iónica / pH	Intervienen en el grado de disociación de la molécula activa. Muchos desinfectantes son más activos en la forma ionizada, mientras que otros son más activos en la forma no ionizada. El grado de ionización dependerá del pK_a del agente y del pH del entorno de desinfección. Por ejemplo, el fenol, con un pK_a de 10, será más eficaz en un pH por debajo de 7 donde no está ionizado, mientras que el ácido acético será más eficaz en un pH por debajo de 4 donde se ioniza.
Determinación de residuos	Espectrofotometría, HPLC, TLC, etc.
Toxicidad	Como medida preventiva ante alguna intoxicación.

4. PRUEBAS DE EFICACIA DE DESINFECTANTES

4.1 Consideraciones generales en las pruebas realizadas para la determinación de la actividad microbicida y esporicida.

A las empresas que registren productos antimicrobianos de salud pública, incluidos desinfectantes, agentes de desinfección, agentes esporádicas y esterilizadores, se les pide que garanticen la seguridad y eficacia de sus productos antes de que se vendan o distribuyan. Deben abordar la composición química de su producto, incluir datos toxicológicos para documentar que su producto es seguro si se utiliza según las instrucciones de la etiqueta, incluir datos de eficacia para documentar sus afirmaciones de eficacia contra organismos específicos y apoyar las instrucciones de uso proporcionadas en el etiquetado, y proporcionar etiquetado que refleje los elementos requeridos para un uso seguro y eficaz.

Si bien estas instrucciones proporcionan información valiosa, es posible que no sean útiles en términos del uso de los productos como desinfectantes en un entorno de fabricación.

En los Estados Unidos, los métodos oficiales de prueba de desinfectantes son publicados por AOAC International³ e incluyen la prueba coeficiente fenólico, prueba de método de uso-dilución, método prueba de superficie dura y prueba de esporicidas.

Un estudio científico presentado para la revisión de la EPA en apoyo del registro de desinfectante debe llevarse a cabo en una instalación de laboratorio que siga las regulaciones de buenas prácticas de laboratorio (GLP) (21 CFR 58).

Para demostrar la eficacia de un desinfectante dentro de un entorno de fabricación farmacéutica, puede considerarse necesario realizar las siguientes pruebas:

- 1) Pruebas de uso-dilución (desinfectantes de cribado para su eficacia en diversas concentraciones y tiempos de contacto contra una amplia gama de organismos de ensayo estándar y aislados ambientales);
- 2) Pruebas de desafío superficial (utilizando microorganismos de prueba estándar y microorganismos que son aislados ambientales típicos, aplicando desinfectantes a superficies a la concentración de uso seleccionada con un tiempo de contacto especificado, y determinando la reducción del tronco de los microorganismos de desafío)
- 3) Comparación estadística de la frecuencia de aislamiento y el número de microorganismos aislados antes y después de la implementación de un nuevo desinfectante.

Esto se considera importante porque es necesario validar pasos críticos del proceso como la desinfección de las áreas de procesamiento aséptico, como exige la normativa GMP, y los requisitos de registro ante las autoridades sanitarias.

Para las pruebas de desafío de superficie, los organismos adicionales de prueba se pueden obtener mediante muestreos con hisopos, enjuague superficial o métodos de placa de contacto.

Los agentes neutralizantes que inactiven los desinfectantes deben incluirse en los medios diluyentes o medios microbiológicos utilizados para la enumeración microbiana (véase en la tabla siguiente)

Puede encontrar información adicional sobre la neutralización de desinfectantes en Validación de la recuperación microbiana de los artículos farmacopéicos <USP 1227.

Tabla No. 11 Agentes neutralizantes para los desinfectantes más comunes

DESINFECTANTE	AGENTE NEUTRALIZADOR
Alcoholes	Dilución o polisorbato 80
Glutaraldehído	Glicina y bisulfito de sodio
Hipoclorito de sodio	Tiosulfato de sodio
Clorhexidina	Polisorbato 80 y lecitina
Cloruro mercuríco y otros mercuriales	Ácido tioglicólico
Compuestos cuaternarios de amonio	Polisorbato 80 y lecitina
Compuestos fenólicos	Dilución o polisorbato 80 y lecitina

Los caldos neutralizantes universales pueden formularse para contener una gama de agentes neutralizantes.

Por ejemplo:

El Caldo Dey/Engley (D/E) contiene:

- 0,5% polisorbato 80,

- 0.7% lecitina,
- 0.1% tioglicolato de sodio,
- 0.6% tiosulfato de sodio
- 0.25% bisulfito de sodio,
- 0.5% triptona,
- 0.25% extracto de levadura,
- 1.0% dextrosa;

El Caldo de letheen contiene:

- 0.5% polisorbato 80,
- 0.07% lecitina,
- 1.0% peptona,
- 0.5% extracto de carne de res,
- 0.5% cloruro de sodio.

Y la base de Caldo tryptone–Azolectin-Tween (TAT) +Tween 20 contiene:

- 4.0% (v/v) Polisorbato 20,
- 0.5% lecitina
- 2.0% triptona.

Los puntos para recordar son

- ❖ Que los desinfectantes son menos eficaces contra el mayor número de microorganismos utilizados en las pruebas de desafío de laboratorio, que contra los números que se encuentran en las salas limpias (ver Evaluación Microbiológica de salas limpias y otros ambientes controlados < USP 1116>).
- ❖ Que el inculo en la fase de crecimiento de las cepas que normalmente se emplean en pruebas de laboratorio, son más resistentes, (con la excepción de las

- esporas formadas durante la fase estática), que los microorganismos de un cultivo estático o en fase de muerte, u organismos estresados en el medio ambiente
- ❖ Y que los microorganismos pueden ser eliminados físicamente durante la aplicación de desinfectante real en el área de fabricación.

Los organismos de reto típicos que pueden emplearse figuran en la tabla siguiente:

Tabla No.12 Organismos de reto típicos

ORGANISMOS DE RETO DE LA AOAC	AISLADOS AMBIENTALES TÍPICOS
Bactericida: <i>Escherichia coli</i> , ATCC 11229; <i>S. aureus</i> , ATCC 6538; <i>P. aeruginosa</i> , ATCC 15442	Bactericida: <i>Micrococcus luteus</i> , <i>S. epidermidis</i> , <i>Coynebacterium jeikeium</i> , <i>P. vesicularis</i>
Fungicida: <i>C. albicans</i> , ATCC 10231 o 2091; <i>Penicillium crisogenum</i> , ATCC 11709; <i>Aspergillus níger</i> , ATCC 16404	Fungicida: <i>P. crisogen</i> , <i>A. níger</i>
Esporicida: <i>B. subtilis</i> , ATCC 19659	Esporicida: <i>B. sphaericus</i> , <i>B. thuringiensis</i>

La siguiente tabla, nos detalla de manera específica el tipo de reto a realizar, tiempos de contacto y criterios de aprobación.

Tabla No.13 Pruebas de eficiencia de desinfectantes con microorganismos específicos.

Tipo de organismo	Tipo de Prueba	Tiempo de contacto minutos	Criterio de aprobación
Bacteria vegetativa	Suspensión	Variable (Usualmente de 0.5 a 5)	Reducc. Log 5
Bacteria vegetativa	Superficie	5	Reducc. Log 4
Hongo vegetativo	Suspensión	15	Reducc. Log 4
Hongo vegetativo	Superficie	15	Reducc. Log 3
Hongo vegetativo	Suspensión	Variable	Reducc. Log 5
Espora bacteriana	Suspensión	60	Reducc. Log 3
Espora bacteriana	Suspensión	Variable	Reducc. Log 5

4.2 Selección del método de análisis

Para demostrar la eficacia de un desinfectante dentro de un entorno de fabricación farmacéutica, es necesario realizar una o más de las siguientes pruebas:

4.2.1 Método de Coeficiente Fenólico

Es una técnica de estandarización para determinar la eficacia bactericida de un compuesto químico con relación al fenol. Se valoran las muestras después de 5, 10 y 15 minutos de tiempo de contacto. Es una modificación de la técnica de dilución en tubo, tal como se describe a continuación:

- a) Se prepara una serie de tubos conteniendo cada uno 5 ml de diferentes concentraciones de desinfectante.

- b) A la vez se prepara una segunda serie de tubos que contengan diferentes concentraciones de fenol.
- c) Cada tubo de las dos series se inocula con 0.5 ml de un cultivo de 24 h del microorganismo de prueba.
- d) Al finalizar los tiempos de contacto se recoge una alícuota de cada tubo inoculado y se coloca en otro tubo conteniendo medio de cultivo estéril.
- e) Los tubos resultantes se incuban durante 24 a 48 h y se observa el crecimiento del microorganismo por medio de turbidez.
- f) La mayor dilución del desinfectante que destruya a los microorganismos en la relación aprobada a los 10 min, pero no los destruya a los 5 min. Se divide por la dilución mayor de fenol que dé los mismos resultados. El número obtenido es el coeficiente fenólico de ese desinfectante. (28)

4.2.2 Método de Uso-Dilución

Para demostrar su eficacia en diversas concentraciones y tiempos de contacto contra una amplia gama de organismos de ensayo estándar y aislamientos ambientales.

Las pruebas de dilución son útiles para confirmar la eficacia del desinfectante en respuesta a las tendencias e investigaciones de monitoreo ambiental o de fallos de esterilidad.

4.2.3 Método de Pruebas de desafío superficial

Los procedimientos más comunes consisten en aplicar y secar el inóculo del organismo de ensayo en cuadrados representativos de la superficie y luego aplicar el desinfectante a la concentración y tiempo determinado.

Se recomienda, el uso de microorganismos aislados en los monitoreos ambientales del sitio y de cepas estandarizadas.

Durante los estudios in vitro, una práctica común para evaluar el sanitizante, es rociar y saturar completamente la superficie de prueba como simulación de sanitización de instalaciones.

En la práctica, es necesario inocular suficientes organismos en un cuadrado de 5.08 cm a 5.08 cm de la superficie, para demostrar:

4.2.3.1. Al menos una reducción de 2 logaritmos (para endosporas bacterianas y esporas fúngicas).

4.2.3.2. Al menos una reducción de 3 logaritmos (para bacterias y hongos vegetativos). Durante un tiempo de contacto predeterminado (por ejemplo, 10 minutos) y verificar la recuperación de microorganismos de desafío en los cuadrados con una aplicación de un desinfectante de control.

4.2.3.3. Condiciones de uso: Para la realización de las pruebas deben considerar los factores o condiciones normales para el uso previsto del producto. Debe ser la dilución de uso del producto, tiempo de exposición, la presencia o ausencia de materia orgánica u otros materiales que interfieran, la dureza del agua y el tiempo durante el cual podría usarse el desinfectante.

4.2.3.4. Validación del neutralizante y microorganismos de prueba. Para las pruebas de actividad microbiciida y fungicida, debe emplearse la neutralización al completar el tiempo de contacto del desinfectante, con la finalidad de evitar efectos residuales en el medio de cultivo. Se tiene que verificar la eficacia del neutralizante a la par que se realizan las pruebas.

Debido a que una amplia gama de diferentes materiales de construcción se utiliza en salas limpias y otras áreas controladas, cada material necesita ser evaluado por separado para validar la eficacia de un desinfectante dado. La tabla siguiente contiene una lista de materiales comunes utilizados en la construcción de salas limpias.

Tabla No.14. Superficies típicas por descontaminar por desinfectantes en un área de fabricación farmacéutica

MATERIAL	APLICACIÓN
Acero inoxidable 304L y 316L grados	Superficies de trabajo, equipos de llenado y tanques
Vidrio	Ventanas y buques
Plástico, vinilo	Cortinas
Plástico, policarbonato	Recubrimiento aislante
Lexan® (plexiglás)	Escudos
Recubrimiento de epóxico	Paredes y techos
Plástico reforzado con fibra de vidrio	Paneles de pared
Tyvek®	Envolturas de equipos
Azulejos de terrazo	Pisos

Tabla No.15 Materiales sugeridos para elaboración de cuadros de prueba.

Tipo de superficie
Acero inoxidable, 304L y 316L, aluminio.
Vidrio, acrílico.
Plástico, policarbonato, vinilo
Paredes y techos con recubrimiento epóxico.
Paneles de pared de plástico reforzado con fibra de vidrio
Suelos de baldosas de terrazo

La eficacia de los neutralizadores y la capacidad de recuperar microorganismos inoculados del material deben demostrarse durante los estudios de uso-dilución o desafío superficial. Para inactivar las propiedades antimicrobianas del sanitizante se debe usar un neutralizante, el cual debe cumplir con dos criterios: eficacia y toxicidad, es decir que inhiba las propiedades

antimicrobianas de los productos y que no perjudique la recuperación de los microorganismos viables.

Se debe demostrar la recuperación de un inóculo menor a 100 UFC, comparando los resultados entre tres grupos de pruebas diferentes:

- i. El inóculo en solución buffer
- ii. Sanitizante inóculado y analizado con neutralizante
- iii. Sanitizante inóculado y analizado sin neutralizante
- iv. Los neutralizantes que inactivan a los desinfectantes, deben ser evaluados para demostrar su toxicidad y eficacia. Los microorganismos pueden eliminarse físicamente durante la aplicación real del desinfectante en el área de fabricación.

Los microorganismos con los que se recomiendan evaluar a los desinfectantes en las condiciones recomendadas, además de la colección estándar (ATCC), son los microorganismos aislados como resultado del monitoreo ambiental, o como flora propia del sitio, pudiendo provenir del sistema de agua.

En la siguiente tabla mostramos los microorganismos usados en los retos microbiológicos para la prueba de efectividad de desinfectantes.

Tabla No.16 Microorganismos indicadores de desafío.

ACTIVIDAD MICROBICIDA	MICROORGANISMOS
Bactericida. Microorganismos de colección.	Escherichia coli ATCC 11229; Staphylococcus aureus ATCC 6538, Pseudomonas aeruginosa ATCC 15442
Bactericida. Microorganismos aislados en monitoreo.	Micrococcus luteus, S. epidermidis, Corynebacterium jeikeium, y P. vesicularis
Fungicida Microorganismos de colección.	Candida albicans ATCC 10231, Aspergillus brasiliensis ATCC 16404
Fungicida. Microorganismos aislados en monitoreo.	Penicillium chrysogenum, A. fumigatus
Esporicida	Bacillus subtilis ATCC 19659, B. thuringiensis, Lysinibacillus sphaericus (anteriormente conocido como B. sphaericus).

4.3 Métodos de eficacia de desinfectantes

4.3.1 AOAC – Métodos de prueba según la Association of Official Analytical Chemists

PRUEBA	PROPÓSITO
AOAC 6.2.02 Official Method 991.47	Prueba de desinfectantes contra Salmonella Choleraesuis Método de prueba del portador de superficies duras
AOAC 6.2.03 Official Method 991.48	Desinfectantes contra Staphylococcus aureus Método de prueba del portador de superficies duras
AOAC 6.2.05 Official Method 991.49	Desinfectantes contra Pseudomonas aeruginosa Método de prueba Portador de superficies duras
AOAC 6.2.04 Official Method 955.15	Desinfectantes contra Staphylococcus aureus Método de dilución de uso
AOAC 6.2.01 Official Method 955.14	Prueba de desinfectantes contra Salmonella Choleraesuis Método de dilución
AOAC 6.2.06 Official Method 994.02	Prueba de desinfectantes contra Pseudomonas aeruginosa Método de dilución
AOAC 6.3.02 Official Method 955.17	Actividad fungicida de los desinfectantes con Trichophyton mentagrophytes
AOAC 6.3.05 Official Method 966.04	Actividad esporicida de los desinfectantes
AOAC 6.3.06 Official Method 965.12	Actividad tuberculosa de los desinfectantes

4.3.2. Pruebas de eficacia de los desinfectantes - Enfoque europeo de pruebas por niveles

Comité Europeo de Normalización Comité TC216

FASE	TIPO DE PRUEBA	PROPÓSITO
Fase 1	Prueba cuantitativa de suspensión en condiciones de ausencia de suciedad para la actividad básica	Establecer que un producto tiene actividad bactericida y/o fungicida sin tener en cuenta las condiciones específicas de uso previstas. Si el producto supera la prueba, puede ser sometido a otras pruebas
Fase 2 Paso 1	Ensayo cuantitativo de suspensión en condiciones representativas del uso práctico	Establecer que un producto tiene actividad bactericida, y/o fungicida, y/o esporicida y/o virucida, y/o tuberculocida, etc., en condiciones adecuadas a su uso previsto en condiciones de laboratorio. Sí el producto pasa la prueba, puede ser objeto de declaraciones genéricas de desinfección.
Fase 2 Paso 2	Prueba cuantitativa de superficie en condiciones representativas del uso práctico	Pruebas de laboratorio, como las pruebas de lavado y frotado de manos, y las pruebas en superficies inertes para establecer que los productos tienen actividad microbicida contra los microorganismos adheridos a la superficie. Si el producto supera la prueba, puede ser declarado apto para la desinfección de superficies.
Fase 3	Prueba de campo en condiciones prácticas	Pruebas confirmatorias de acuerdo con los resultados de las Fases 1 y 2.

4.3.3 Normas británicas (BS) Métodos de prueba EN

PRUEBA	PROPÓSITO
BS EN 1276	Prueba cuantitativa de suspensión (QST) para la evaluación de la actividad bactericida de los desinfectantes y antisépticos químicos utilizados en el ámbito alimentario, industrial, doméstico e institucional.
BS EN 1650	Prueba cuantitativa de suspensión (QST) para la evaluación de la actividad fungicida de los desinfectantes y antisépticos químicos utilizados en el ámbito alimentario, industrial, doméstico e institucional.
BS EN 13704	Prueba cuantitativa de suspensión (QST) para la evaluación de la actividad esporicida de los desinfectantes químicos utilizados en el ámbito alimentario, industrial, doméstico e institucional.
BS EN 13697	Prueba cuantitativa en superficie no porosa para la evaluación de la actividad bactericida y/o fungicida de desinfectantes y antisépticos químicos utilizados en el ámbito alimentario, industrial, doméstico e institucional.

En cuanto a las diferentes presentaciones de los desinfectantes, la EPA sugiere los siguientes métodos, los cuales apoyan el registro ante la FIFRA y la FDA como desinfectantes.

Tabla No.17 Resumen de las pruebas de desinfectantes recomendadas por la EPA*

RETO	FORMULA	METODO DE PRUEBA	ORGANISMO DE PRUEBA	Número de lotes /acarreadores	INOCULO	CRITERIO DE ACEPTACIÓN
Desinfectantes de espectro limitado /superficies duras no porosas	Productos en polvo solubles en agua/ líquidos	AOAC Use-Dilution Method (UDM) (ref. 19)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Salmonella enterica</i> ATCC 10708	3 lotes por cada microorganismo a la LCL: 60 acarreadores por lote. Nota para UDM de <i>S. aureus</i> , cada lote debe ser probado en diferentes días.	La cuenta control para <i>S. entérica</i> debe ser de 1.0×10^5 a 1.0×10^6 UFC/portador. La cuenta control para <i>S. aureus</i> debe ser de 1.0×10^6 a 1.0×10^7 UFC/portador.	La norma de rendimiento para <i>S. aureus</i> es no más de tres portadores positivos de 60 por prueba. La norma de rendimiento para <i>S. enterica</i> es de no más de un portador positivo de 60 por prueba.
	Productos en spray	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test (ref. 20)			La cuenta control para <i>S. enterica</i> debe ser de 1.0×10^4 a 3.2×10^5 UFC/portador. Los recuentos de <i>S. aureus</i> deben ser de 1.0×10^5 a 3.2×10^6 UFC/portador.	El producto debe matar todos los microorganismos de la prueba en 59 de Los 60 portadores de cada grupo.
	Toallitas	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Prueba modificada o ASTM E2362 (ref. 21)				
Desinfectantes de espectro amplio /superficies duras no porosas	Productos en polvo solubles en agua/ líquidos	AOAC Use-Dilution Method (UDM) (ref. 10)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 <i>Salmonella enterica</i> ATCC 10708 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442	3 lotes por cada microorganismo a la LCL: 60 acarreadores por lote. Nota para UDM de <i>S. aureus</i> y <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442, cada lote debe ser probado en diferentes días.	La cuenta control para <i>S. enterica</i> debe ser de 1.0×10^5 a 1.0×10^6 UFC/portador. La cuenta control para <i>S. aureus</i> debe ser de 1.0×10^6 a 1.0×10^7 UFC/portador.	La norma de rendimiento establece para: <i>S. aureus</i> no más de tres portadores positivos de 60 por prueba, para <i>S. enterica</i> es no más de un portador positivo de 60 por prueba, para <i>P. aeruginosa</i> es de no más de seis portadores positivos de 60 por prueba.
	Productos en spray	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test (ref. 20)			La cuenta control para <i>S. enterica</i> debe ser de 1.0×10^5 a 1.0×10^6 UFC/portador. La cuenta control para <i>S. aureus</i> debe ser de 1.0×10^6 a 1.0×10^7 UFC/portador. En donde se use <i>Ps. aeruginosa</i> en lugar de <i>S. entérica</i> , la cuenta debe estar 1.0×10^5 to 3.2×10^6 CFU/portador	El producto debe matar todos los microorganismos de la prueba en 59 de los 60 portadores /lámina
	Toallitas	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Prueba modificada o ASTM E2362 (ref. 21)				
Bacterias adicionales /superficies duras no porosas	Productos en polvo solubles en agua/ líquidos	AOAC Use-Dilution Method (UDM) (ref. 19)	Bacterias adicionales declaradas en la etiqueta.	2 lotes a la concentración nominal propuesta. 10 acarreadores por lote.	Las cuentas control deben estar entre 1×10^4 a 1×10^5 UFC/acarreador.	El producto debe matar todos los microorganismos de la prueba en los diez portadores
	Productos en spray	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test (ref. 20)				
	Toallitas	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Prueba modificada para toallas o ASTM E2362 (ref. 21)				

Desinfectante virucida/ superficies duras no porosas	Productos en polvo solubles en agua/ líquidos	ASTM E1053 (ref. 23) modified for the formulation type	El virus declarado en la etiqueta o el sustituto aprobado por la EPA	2 lotes en el LCL para la cepa más difícil de matar Para todos los virus adicionales, dos lotes al a la concentración nominal. Los no sustitutos: 1 superficie por lote Sustitutos: 2 superficies por lote	Probar cada lote con título final recuperable de virus de ≥ 104.80 ($6,3 \times 10^4$) partículas virales viables por soporte/superficie de prueba durante un período de exposición. Para lograr este rango, el cultivo de virus puede estandarizarse por concentración o dilución. El método utilizado para estandarizar el cultivo debe ser documentado en los datos brutos y comunicado.		
	Productos en spray						
	Toallitas						
Desinfectante fungicida/ superficies duras no porosas	Productos en polvo solubles en agua/ líquidos	AOAC Use-Dilution Method modified for fungi or AOAC Fungicidal Activity of Disinfectants (ref. 22)	Trichophyton interdigitale (ATCC 9533) (anteriormente Trichophyton mentagrophytes)	2 lotes en el LCL; 10 portadores por lote para los métodos métodos basados en el portador. 2 lotes para la prueba AOAC Prueba fungicida	La cuenta debe estar entre 5×10^6 a 5×10^7 conidia/ml	Todas las esporas de hongos a los 10 minutos deben ser eliminadas (no hay crecimiento) para apoyar la declaración de la etiqueta para un tiempo de contacto de diez minutos	
	Productos en spray	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test modified for fungi				La cuenta debe estar entre 1×10^4 a 1×10^5 conidia/acarreador.	En la prueba con o sin modificación de las toallitas, todas las esporas fúngicas en los veinte portadores deben ser eliminadas (no hay portadores positivos).
	Toallitas	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test modified for towelettes or ASTM E2362 (ref. 21)					
Desinfectante tuberculocida/ superficies duras no porosas	Productos en polvo solubles en agua/ líquidos	AOAC Tuberculocidal Activity of Disinfectants (ref. 8), Quantitative Tuberculocidal Activity Test (ref. 27)	Mycobacterium bovis (BCG), (ATCC 35743)	2 lotes a la concentración LCL; 10 acarreadores por lote.	El título del organismo debe estar 1×10^7 - 1×10^8 CFU/ml.	Cada una de las cuatro réplicas debe demostrar $\geq 1,0 \times 10^4$ UFC ($\geq 4,0$ log) de eliminación del organismo de prueba para ambos lotes en el tiempo de contacto indicado	
	Productos en spray	AOAC Germicidal Spray Products Test modified for tuberculocidal activity					
	Toallitas	AOAC Germicidal Spray Products as Disinfectants Test modified for towelettes or ASTM E2362					

* La tabla no incluye las pruebas de confirmación. Para obtener orientación sobre la realización de pruebas de confirmación, consulte la sección cada presentación.

** Las aplicaciones de espuma, niebla, gas y vapor no se incluyen en esta categoría. Los solicitantes deben consultar con la Agencia EPA antes de realizar las pruebas para determinar la metodología adecuada para las pruebas de rendimiento del producto.

5. NORMATIVIDAD MEXICANA

Los departamentos de control microbiológico son los responsables de llevar a cabo las pruebas para corroborar que la información proporcionada por el fabricante es correcta y fidedigna. Para llevarla a cabo, es necesario revisar la normativa nacional e internacional para realizar las pruebas y se cumplan las especificaciones.

Desde el punto de vista regulatorio, las agencias regulatorias que México reconoce son:

- COFEPRIS
- Regulaciones mexicanas de acuerdo con la Constitución política de los Estados Unidos Mexicanos, la Ley general de salud y Reglamentos para insumos de la salud.
- The Food and Drug Administration
- The Australian Therapeutic Goods Administration
- Health Canada
- The European Medicines Agency
- Swiss Agency for Therapeutic Products

5.1 Normas Mexicanas relacionadas.

Tabla No.18 Marco legal vigente

NORMA OFICIAL MEXICANA	REGULACIÓN
NOM-059-SSA1-2015	Buenas Prácticas de Fabricación para establecimientos de la industria químico farmacéutica dedicados a la fabricación de medicamentos.
NOM-241-SSA1-2018	Buenas Prácticas de Fabricación de Dispositivos Médicos.
NOM-164-SSA1-2015	Buenas prácticas de fabricación de fármacos.
NOM-026-STPS-2008	Colores y señales de seguridad e higiene, e identificación de riesgos por fluidos conducidos en tuberías
NOM-210-SSA1-2014	Productos y servicios. Métodos de prueba microbiológicos. Determinación de microorganismos indicadores. Determinación de microorganismos patógenos.

Norma Oficial Mexicana NOM-005-STPS-1998,	Relativa a las condiciones de seguridad e higiene en los centros de trabajo para el manejo, transporte y almacenamiento de sustancias químicas peligrosas.
Norma Oficial Mexicana NOM-002-SEMARNAT-1996,	Que establece los límites máximos permisibles de contaminantes en las descargas de aguas residuales a los sistemas de alcantarillado.
NOM-249-SSA1-2010	Mezclas estériles: nutricionales y medicamentosas, e instalaciones para su preparación.
21CFR 211.182	Registro de limpieza y uso de equipos.
Farmacopea de los Estados Unidos Mexicanos y sus suplementos	Metodologías de prueba y límites de aceptación.

Las pruebas que se pueden utilizar para demostrar la efectividad microbica de los sanitizantes se mencionan a continuación:

1. NMX-BB-040-SCFI-1999. Método de Prueba para Determinar la Actividad Antimicrobiana en Productos Germicidas.
2. DM-041 Método de Prueba para Determinar la Actividad Antimicrobiana en Productos Germicidas.
3. Métodos de AOAC.

5.2 Documentación requerida por COFEPRIS

Documentos técnicos:

- a. Resumen General de calidad. Que dé un panorama general del sistema de calidad, que al menos incluya referencias normativas con el que da cumplimiento y que mencione los elementos que lo conforman.
- b. Manual de Calidad, conformado con los requerimientos de las normas aplicables.

En términos de la validación de limpieza:

- c. Política de validación, de calificación y del mantenimiento del estado validado.
- d. Plan maestro de validación.

5.3 Otros requerimientos regulatorios

La selección uso y pruebas de desinfectantes van directamente relacionadas al proceso de validación de limpieza, por tal motivo consideramos importante tomar en cuenta las siguientes regulaciones.

5.3.1 Anexo 15 de la UE

- La validación de la limpieza debe realizarse para
- confirmar la eficacia de un procedimiento de limpieza.
- La justificación de la selección de los límites de arrastre de residuos de productos, agentes de limpieza y contaminación microbiana debe basarse lógicamente en los materiales de que se trate.
- Los límites deben ser alcanzables y verificables.
- Los métodos analíticos validados que tengan sensibilidad para detectar residuos o contaminantes.

5.3.2 Health Canada

Los procedimientos de limpieza deben seguir estrictamente métodos cuidadosamente establecidos y métodos validados.

Deben desarrollarse procedimientos de limpieza adecuados para todo equipo en contacto con el producto utilizado en el proceso de producción.

También hay que tener en cuenta las partes sin contacto en las que el producto puede migrar, por ejemplo, juntas, bridas, eje mezclador, ventiladores de hornos, elementos de calefacción, etc.

Se puede realizar un estudio de validación único teniendo en cuenta el peor caso

Los métodos analíticos utilizados para detectar residuos o contaminantes deben ser específicos para la sustancia o microorganismos a analizarse (por ejemplo, residuos de productos, residuos de detergentes y/o Endotoxinas) y ser validados antes de que el estudio de validación de la limpieza se lleve a cabo.

5.3.3 FDA

- La FDA contempla que las empresas cuenten con procedimientos generales escritos sobre cómo se validarán los procesos de limpieza serán validados.
- La FDA contempla que los procedimientos generales de validación aborden quién es responsable de realizar y aprobar el estudio de validación, los criterios de aceptación y cuándo se requerirá la revalidación.
- La FDA contempla que las empresas preparen previamente protocolos de validación específicos por escrito para los estudios que se realizarán en cada sistema de fabricación o pieza de equipo que deben abordar cuestiones como los procedimientos de muestreo, y los métodos analíticos que se utilizarán, incluida la sensibilidad de dichos métodos.
- La FDA contempla que las empresas realicen los estudios de validación de acuerdo con los protocolos y que documenten los resultados de los estudios.
- La FDA contempla un informe final de validación que sea aprobado por la dirección y en el que se indique si el proceso de limpieza es válido o no. Los datos deben respaldar la conclusión de que los residuos se han reducido a un "nivel aceptable".

5.3.4 OMS

- La toxicidad de los materiales residuales debe ser considerada cuando se decida el método analítico adecuado y los límites de limpieza residual.
- Los límites de residuos establecidos para cada aparato deben ser prácticos, alcanzables y verificables.

- El fabricante debe poder demostrar, con datos de apoyo, que el nivel residual permitido tiene una base científica.
- Otro factor a tener en cuenta es la posible falta de uniformidad del residuo.

5.3.5 PIC/S

- A la hora de evaluar el proceso de limpieza deben abordarse varias cuestiones proceso:
- ¿En qué momento un equipo o sistema queda limpio?
- ¿Qué significa estar visualmente limpio?
- ¿Es necesario fregar el equipo a mano?
- ¿Qué se consigue con el fregado a mano en lugar de un simple lavado con disolvente?
- ¿En qué medida varían los procesos de limpieza manual de un lote a otro y producto a producto?
- ¿Cuál es el disolvente o detergente más adecuado?
- ¿Se requieren diferentes procesos de limpieza para diferentes productos en contacto con un equipo?
- ¿Cuántas veces debe aplicarse un proceso de limpieza para garantizar una adecuada limpieza de cada pieza del equipo?

5.3.6 Cartas de advertencia publicadas

En ellas podemos revisar hallazgos en empresas que tienen como objetivo completar, documentar y demostrar que se ha mitigado y resuelto el hallazgo. Mismo que es aplicable a las demás empresas del ramo. Los siguientes son ejemplos.

- No se ha realizado la validación de la limpieza
- No hay procedimientos escritos para los equipos de limpieza y el procedimiento no ha sido validado
- Contaminación microbiana hallada y toma de muestras lugares de muestreo no claros ni específicos.

5.3.7 cGMP 21 CFR 211.67, Limpieza y Mantenimiento de Equipos

Detalla los requisitos para procedimientos escritos para la limpieza, mantenimiento y desinfección de equipos de fabricación farmacéutica. Estos procedimientos deben abordar la asignación de responsabilidades, el establecimiento de horarios, los detalles de las operaciones de limpieza, la protección de los equipos limpios antes de su uso, la inspección de la limpieza inmediatamente antes del uso y el mantenimiento de los registros de limpieza y desinfección.

6. NUEVAS METODOLOGIAS EN DESARROLLO

Para ayudar a prevenir la liberación de productos contaminados en el mercado, es necesario realizar pruebas rápidas de calidad microbiológica para tal liberación.

Los métodos compendiales existentes en las pruebas de control de calidad son muy laboriosos y consumen mucho tiempo.

Basado en los hechos anteriores, hay una responsabilidad clave para los microbiólogos farmacéuticos para desarrollar un método para detectar tipos generales de contaminantes o un contaminante importante de interés, rápidamente.

A continuación, se muestra una matriz de productos RMM (Rapid Microbiological Methods)

Esta matriz de productos RMM permite comparar múltiples tecnologías de métodos microbiológicos rápidos que están disponibles comercialmente o en desarrollo.

La información presentada en la Matriz de Productos RMM es proporcionada por los proveedores y/o lo que está disponible en el dominio público, y puede cambiar sin previo aviso.

Las tablas contemplan tres opciones de RMM (17):

6.1 RMM para la identificación microbiana

Ver Anexo 10.6 RMM Identificación de microorganismos

6.2 RMM para el análisis cualitativo (detección de microorganismos; presencia/ausencia)

Ver Anexo 10.7 RMM Análisis Cualitativos

6.3 RMM para el análisis cuantitativo (enumeración de microorganismos)

Ver Anexo 10.8 RMM Análisis Cuantitativos

7. CONCLUSIONES

Al seleccionar un desinfectante para su uso en industrias farmacéuticas, se debe recorrer un camino dividido entre las propiedades científicas, la aplicación práctica y las consideraciones de seguridad.

Además, para hacer la selección, los desinfectantes deben evaluarse en condiciones de uso simulado, integrando los efectos netos de la preparación, la concentración, la aplicación y el tiempo de contacto del desinfectante con diferentes organismos de desafío y propiedades de la superficie a probar.

Recordemos que los estudios de validación se dividen en tres secciones:

- Pruebas de suspensión: Para evaluar la reducción de una población de organismos conocida inoculada directamente en una muestra del desinfectante líquido,
- Pruebas de superficie: que evalúan la capacidad de un desinfectante para reducir el número de organismos desafiantes en una superficie inoculada,
- Pruebas de campo: una evaluación final de los datos de monitoreo ambiental para validar el enfoque.

Teniendo que las dos primeras fases, son las pruebas básicas de eficacia de los desinfectantes y deben demostrar que los desinfectantes:

1. Son eficaces contra los tipos de microorganismos que se encuentran en los sitios de fabricación y los microorganismos establecidos como cuestionables por la normatividad.
2. Pueden reducir las poblaciones microbianas hasta un nivel adecuadamente bajo
3. Son compatibles y eficaces contra los microorganismos que se encuentran en las superficies predominantes utilizadas en los sitios de fabricación.

4. No dejan residuos en las superficies que puedan interferir con la recuperación de los organismos en las placas de contacto.

Una vez realizadas las pruebas, debe generarse un informe que debe concluir el resultado de la prueba de eficacia del desinfectante en relación con los criterios de aceptación.

Si un desinfectante supera la prueba, considerándolo apto para su uso, los procedimientos deben reflejar las prácticas adoptadas durante la calificación, como la concentración del desinfectante, el tiempo de contacto y el método de aplicación a las superficies.

La adopción final del desinfectante debe basarse entonces en una evaluación de seguimiento o ensayo de campo, que incluya una evaluación de los recuentos microbianos y las especies recuperadas.

Si se elaboran protocolos siguiendo estas recomendaciones, si los proveedores de desinfectantes recomiendan los criterios revisados y, lo que es más importante, si colaboran con los reguladores para presentar los argumentos científicos que sustentan el enfoque, debería ser posible construir una base sólida en el sitio para las pruebas de eficacia en sus procesos.

Así mismo es importante la consideración del rol de sanitizantes, con el cual se evita la formación de biopelículas y su consecuente dificultad en las sanitizaciones futuras.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- 8.1 Manual de Microbiología aplicada a las Industrias Farmacéutica, Cosmética y de Productos Médicos 40
- 8.2 NORMA Oficial Mexicana NOM-059-SSA1-2015, Buenas prácticas de fabricación de medicamentos.
- 8.3 FEUM 13. Apéndice VIII. Informativo. Guía para la selección y evaluación de desinfectantes y/o sanitizantes. 2020.
- 8.4 Anexo 6 del informe 34 prácticas adecuadas de fabricación: directrices sobre la validación de los procesos de fabricación [Microsoft Word - E5834C66.doc \(paho.org\)](#)
- 8.5 USP 35 <1072 disinfectants and antiseptics >, <1116 microbiological evaluation of clean rooms and other controlled environments >, <1227 validation of microbial recovery from pharmacopeial articles >

- 8.6 NORMA Oficial Mexicana NOM-164-SSA1-2015, Buenas prácticas de fabricación de fármacos.
- 8.7 PIC/S Convención de inspección farmacéutica régimen de cooperación de la inspección farmacéutica PE 009-11 (Anexo 20 Gestión de riesgos de calidad) 1 de marzo de 2014
- 8.8 FOOD AND DRUG ADMINISTRATION OFFICE OF REGULATORY AFFAIRS ORA Laboratory Manual Volume II Document Number: ORA-LAB.5.4.5 Revision #: 02 Revision Date: 06/30/2020 Methods, Method Verification and Validation
- 8.9 Guidance for Industry Sterile Drug Products Produced by Aseptic Processing — Current Good Manufacturing Practice. FDA Sep. 2004
- 8.10 Gudeman, Jennifer et al. Potential risks of pharmacy compounding. *Drugs in R&D* 13(1), 1-8 (2013).
- 8.11 MATRIZ de RMM <https://rapidmicromethods.com/files/matrix.php#identification> . Rapid Microbiology Methods <https://www.linkedin.com/groups/2884229/> Copyright 2010-2021 rapidmicromethods.com. All rights reserved.
- 8.12 Product Performance Test Guidelines OCSPP 810.2200: Disinfectants for Use on Environmental Surfaces Guidance for Efficacy Testing. United States Environmental Protection Agency Office of Chemical Safety and Pollution Prevention (7510P) EPA 712-C-17-004 February 2018
- 8.13 8.13 Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Use Dilution Methods (955.14, 955.15, & 964.02). Current edition. AOAC International, Suite 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, MD 20877-2417.
- 8.14 Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Official Method 961.02 Germicidal Spray Products as Disinfectants. Current edition. AOAC International, Suite 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, MD 20877-2417.
- 8.15 Standard Practice for Evaluation of Pre-saturated or Impregnated Towelettes for Hard Surface Disinfection, ASTM Designation E2362. Current edition. ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428.

- 8.16 Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Official Method 955.17 Fungicidal Activity of Disinfectants. Current edition. AOAC International, Suite 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, MD 20877-2417.
- 8.17 Test Method for Efficacy of Virucidal Agents Intended for Inanimate Environmental Surfaces, ASTM Designation E1053. Current edition. ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428.
- 8.18 Standard Test Method for Neutralization of Virucidal Agents in Virucidal Efficacy Evaluations, ASTM Designation E1483. Current edition. ASTM International, 100 Barr Harbor Drive, West Conshohocken, PA 19428.
- 8.19 Ascenzi, J.M., et al., A More Accurate Method for Measurement of Tuberculocidal Activity of Disinfectants. Applied Environmental Microbiology, Vol. 53, No. 9, 1987, pp. 2189-2192. (Suspension-based assay).
- 8.20 Ingraham J., Ingraham C. Introducción a la microbiología. España Reverté S.A. 1998

9. BIBLIOGRAFIA

- 9.1 Jimenez L. Analysis of FDA Enforcement Reports (2012-2019) to Determine the Microbial Diversity in Contaminated Non-Sterile and Sterile Drugs. Am Pharm Rev, Oct 24 (2019).
- 9.2 Elnifro, E M et al. Multiplex PCR: optimization and application in diagnostic virology. Clin Microbiol Rev, 13(4), 559-70 (2000).
- 9.3 Karanam V.R., Reddy H.P., et al., Detection of indicator pathogens from pharmaceutical finished products and raw materials using multiplex PCR and comparison with conventional microbiological methods. J Ind Microbiol Biotechnol, 35(9),1007 – 18 (2008).
- 9.4 Ragheb S.M, Yassin A.S, Amin M.A. The application of uniplex, duplex, and multiplex PCR for the absence of specified microorganism testing of pharmaceutical excipients and drug products. PDA J Pharm Sci Technol. 66(4):307-17 (2012).
- 9.5 Hamido M. Hefny and Alhussaini M.S. Using Uniplex and Multiplex Polymerase Chain Reaction Assays For Molecular Diagnosis Of Indicator Pathogens in Non Sterile Pharmaceutical Products. Life Sci J 12(11),119-133 (2015).

9.6 Rajendran Vijayakumar, Faiz Alfaiz, Tim Sandle. Simultaneous detection of bacterial, fungal and pseudomonas aeruginosa contamination in pharmaceutical products using multiplex PCR. *Chimica Oggi - Chemistry Today* - vol. 38(2) March/April 2020.

9.7 Environmental Protection Agency, MB-16: Standard Operating Procedure for Quantitative Suspension Test Method for Determining Tuberculocidal Efficacy of Disinfectants Against *Mycobacterium bovis* (BCG) (Biological and Economic Analysis Division, Office of Pesticide Programs).

9.8 Official Methods of Analysis of the AOAC International, Chapter 6, Disinfectants, Official Method 965.12 Tuberculocidal Activity of Disinfectants. Current edition. AOAC International, Suite 500, 481 North Frederick Avenue, Gaithersburg, MD 20877-2417

9.9 Videos recomendados.

9.1.1 Conferencia EducaPRIS Sesión 01/07/2021“ Certificación de buenas prácticas de fabricación” al link: <https://www.gob.mx/cofepris/es/videos/educapris-sesion-01-07-2021-certificado-de-buenas-practicas>

9.1.2 Validación de limpieza <https://m.youtube.com/watch?v=nDmtkkqtfn4>

9.1.3 Educapris, Certificación de buenas prácticas de manufactura: <https://www.gob.mx/cofepris/es/videos/educapris-sesion-01-07-2021-certificado-de-buenas-practicas>

10. ANEXOS

10.1 Protocolo e informe de la validación.

A continuación, se sugiere un esquema para el protocolo de validación y el informe correspondiente en relación con un proceso particular:

Parte 1. Finalidad (de la validación) y requisitos previos.

Parte 2. Presentación del proceso en su totalidad, incluidos los subprocesos, diagrama de flujo, pasos cruciales / riesgos

Parte 3. Plan Maestro de validación. Protocolo de validación, aprobación.

3.1 Política de validación.

3.2 Estructura organizacional para las actividades de validación.

3.3 Resumen de las instalaciones, sistemas, equipo y procesos a validar.

3.4 Formato a usarse para protocolos y reportes.

3.5 Planeación y programación.

3.6 Control de cambios.

3.7 Referencia a documentos existentes

Parte 4. Calificación de la instalación, esquemas

Parte 5. Protocolo / informe de calificación

5.1 Subproceso

5.1.1 Finalidad

5.1.2 Procedimiento, lista de métodos de fabricación, POC y procedimientos por escrito,

5.1.3 Procedimiento de muestreos y métodos analíticos, criterios de aceptación (descripción detallada de los procedimientos establecidos o referencia a éstos, como se describe en las farmacopeas)

5.1.4. Sistemas computacionales que impactan a la calidad del producto.

5.1.5. Sistemas críticos

5.1.4 Notificación

5.1.4.1 Calibración del equipo de prueba usado en el proceso de producción

5.1.4.2 Datos de prueba (en bruto)

5.1.4.3 Resultados (resumen)

5.1.5 Procesos o métodos de limpieza

5.1.6 Procesos de producción

5.1.7. Procesos de empaque primario y acondicionado.

Parte 6. Características del producto y datos de prueba de los lotes de validación

Parte 7. Evaluación, incluida la comparación con los criterios de aceptación y las recomendaciones (en especial, frecuencia de revalidación / recalificación)

Parte 8. Certificación (aprobación)

Parte 9. Si corresponde, preparación de una versión abreviada del informe de validación para uso externo, por ejemplo, por el organismo de reglamentación El protocolo y el informe de validación pueden incluir además copias del informe de estabilidad del producto o un resumen de éste, documentación de la validación sobre limpieza y métodos analíticos.

Parte 10. El PMV debe indicar, como resultado:

10.1 Vigencia.

10.2 Alcance.

10.3 Objetivos.

10.4 Mantenimiento del estado validado.

Cuando se requiera debido a la magnitud del proyecto, puede ser necesaria la creación de planes maestros de validación separados

Parte 11. Referencias

1. Prácticas adecuadas para la fabricación de productos farmacéuticos. En: Comité de Expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas: 32° informe. Ginebra. Organización Mundial de la Salud, 1992:15-83 (OMS, Serie de Informes Técnicos, N° 823).

2. Validación de los procedimientos analíticos empleados en el examen de los materiales farmacéuticos. En: comité de Expertos de la OMS en Especificaciones para las Preparaciones Farmacéuticas: 32' informe. Ginebra, Organización Mundial de la Salud, 1992:121-125 (OMS, Serie de Informes Técnicos, N° 823).

3. Good manufacturing practice for medicine/ products in the European Community. Bruselas, Comisión de las Comunidades Europeas, 1992.

10.2 Protocolo de validación de desinfectantes

Cómo escribir un protocolo para la prueba de desinfectantes de diferentes tipos de desinfectantes en sistemas farmacéuticos validados.

10.2.1 OBJETIVO

Este documento describe el procedimiento a realizar en la prueba de eficacia de desinfectantes de diferentes desinfectantes químicos.

10.2.2 ALCANCE

Este documento provee el procedimiento para validar los sanitizantes y el proceso de sanitización que deberá llevarse a cabo en la manufactura y pruebas en los sitios farmacéuticos.

10.2.3 DOCUMENTO DE REFERENCIA

10.2.3.1 SOP Preparación de medios de cultivo.

10.2.3.2 SOP manejo de cepas de colección

10.2.3.3 SOP aislamiento y uso de microorganismos aislados en el sitio

10.2.3.4 SOP preparación de soluciones desinfectantes

10.2.3.5 Prueba de desinfectantes Plan maestro de validación.

10.2.3.6 SOP manejo de desechos biológicos.

10.2.4 PRE-REQUISITOS

Antes de ejecutar la prueba de acuerdo con el protocolo de validación, tomar en cuenta los siguientes puntos:

10.2.4.1 Cepas estándar de microorganismos

- i. *Bacillus subtilis*
- ii. *Escherichia coli*
- iii. *Staphylococcus aureus*
- iv. *Candida albicans*
- v. *Aspergillus niger*
- vi. *B. cepacia* (sugerencia debido a la tendencia de altas cargas microbianas de este microorganismo en agua)
- vii. Microorganismos aislados de monitoreos ambientales

10.2.4.2 Desinfectantes. Todos los desinfectantes usados en el sitio.

10.2.4.3 Reactivos y Medios: Medios de cultivo, Solución salina isotónica, Soluciones neutralizantes, buffers.

10.2.4.4 Equipo necesario. Vortex, incubadores, cronómetros, micropipetas, etc

10.2.4.5 Material estéril necesario, puntas, asas, gasas, etc.

10.2.4.6 Material necesario para correcta disposición de desechos biológico infeccioso.

10.3 RESPONSABILIDADES

Responsable de Aseguramiento de calidad, Control microbiológico, personal a cargo de validación de limpieza, etc. Los cuales fueron estipulados en el protocolo de validación, como sigue:

10.3.1 Aseguramiento de calidad (Validación)

Protocolo aprobado.

10.3.2 Control de la Calidad.

Preparación de protocolo

Revisión de protocolo

Ejecución de protocolo.

10.4 METODO DE VALIDACION

10.4.1 Pruebas

10.4.2 Método de diluciones (Validación del sanitizante)

10.4.3 Método de aplicación de desinfectante en superficies de uso (Validación del método de sanitización).

10.5. PROCEDIMIENTO. De acuerdo con el PMV

10.6 RESULTADOS

10.7 ANALISIS DE RESULTADOS

10.8 DETERMINACION DE CONCENTRACION DE USO Y TIEMPO DE CONTACTO

10.9 DETERMINACIÓN DE FECHA DE CADUCIDAD DE DESINFECTANTE DILUÍDO

10.10 DISPOSICIÓN DE DESINFECTANTE NO USADO.

RESULTADOS CRUDOS

Microorganismos	Suspensión de prueba			Control negativo N ₀	Control positivo (1)			Control de prueba (2)			Prueba de desinfectantes (3)			Control de neutralización (4)			Criterio de aceptación N=Nc ≤ 2 log10								
	Dilución usada	X1	X2		PROMEDIO	FACTOR DIL.	X1	X2	PROMEDIO	FACTOR DIL.	Nc	X1	X2	PROMEDIO	FACTOR DIL.	Nd	X1	X2	PROMEDIO	FACTOR DIL.	Nn	N-Nc	CUMPLESINDO		
<i>Escherichia coli</i> , ATCC 11229;																									
<i>S. aureus</i> , ATCC 6538;																									
<i>P. aeruginosa</i> , ATCC 15442																									
<i>B. subtilis</i> , ATCC 19659																									
<i>C. albicans</i> , ATCC 10231 o 2091;																									
<i>Penicillium crissogenum</i> ATCC 11709;																									
<i>Aspergillus niger</i> , ATCC 16404																									
<i>Micrococcus luteus</i> ,																									
<i>S. epidermidis</i> ,																									
<i>B. sphaericus</i> ,																									
Microorganismo aislado Gram +																									
Microorganismo aislado Gram -																									
Microorganismo aislado Hongo																									
Microorganismo aislado Esporulado																									

VALIDACION DE DESINFECTANTES
 PROTOCOLO EFICACIA DE DESINFECTANTES
 RESULTADOS DE LA EVALUACION DE LA EFICACIA DE DESINFECTANTES

MICROORGANISMO	RECOCORRO DE LA SUPERFICIE DE PRUEBA N°s						Efecto microbicida (ME)	LOTE INTERNO	
	(0) Control negativo	(1) Control positivo	(2) Control prueba		(3) Prueba de desinfectante				CRITERIO DE ACEPTACION N _s < 100 UFC/ml para concentraciones activas
			Nc, Np	Nd, Nq	Nr, Ns	CUMPLE			
<i>Escherichia coli</i> , ATCC 11229;							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>S. aureus</i> , ATCC 6538;							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>P. aeruginosa</i> , ATCC 15442							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>B. subtilis</i> , ATCC 19659							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>C. albicans</i> , ATCC 10231 o 2091;							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>Penicillium crissogenum</i> ATCC 11709;							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>Aspergillus niger</i> , ATCC 16404							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>Micrococcus luteus</i> ,							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>S. epidermidis</i> ,							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
<i>B. sphaericus</i> ,							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
Microorganismo aislado Gram +							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
Microorganismo aislado Gram -							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
Microorganismo aislado Hongo							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		
Microorganismo aislado Esporulado							<input type="checkbox"/> Si <input type="checkbox"/> No		

EQUIPO	VIGENCIA CALIFICACION
INCUBADOR 30-35 C	
INCUBADOR 37 ±1C	
INCUBADOR 20-25 C	
BAÑO DE AGUA	
CABINA DE BIOSEGURIDAD	
TERMOMETRO	
CRONOMETRO	
MICROPIPETA 20-200µL	
MICROPIPETA 100-1000µL	

OBSERVACIONES:

CRITERIOS DE ACEPTACION PARA EFECTO MICROBICIDA EN SUPERFICIES:

- ACTIVIDAD BACTERICIDA: Reducción > 3 log₁₀
- ACTIVIDAD ESPORICIDA: Reducción > 2 log₁₀
- ACTIVIDAD FUNGICIDA: Reducción > 3 log₁₀

DICTAMEN:
 APROBADO RECHAZADO

REALIZÓ: _____
 SUPERVISOR DE MICROBIOLOGIA

10.3 Apéndice A Normativo. Áreas de fabricación.

Clasificación	Ejemplos de procesos ^a	Número máximo permitido de partículas ^b totales/m ³ :			Partículas viables ^b		Presión diferencial y flujo de aire	Cambios de aire por hora ⁱ	Temperatura y humedad	Vestimenta
		Condiciones estáticas ^b /dinámicas	≥0.5 µm	≥5 µm	Frecuencia de monitoreo	(UFC)				
Clase A (ISO-Clase 5)	Envasado/llenado de principios activos estériles.		3 520 / 3 520	20 / 20	CONTINUO/ Durante todo el proceso de llenado	<1/placa ^{b.1} <1/m ³ ^{b.2} <1/placa ^{b.3} <1/guante ^{b.4}	>15 Pa con respecto a cuartos adyacentes, aplicando un concepto de cascada ^c	n.a.	18°C a 25°C 30 a 65% HR ^f	Overol, escarfa, googles, cubrezapatos y guantes, estériles para área aséptica.
Clase B	Entorno de ISO-Clase 5		3 520 / 352 000	29 / 2 900	c/3 meses	<5/placa ^{b.1} <10/m ³ ^{b.2} <5/placa ^{b.3} <5/guante ^{b.4}	>15 Pa con respecto a áreas no asepticas, aplicando un concepto de cascada	20 a 50	18°C a 25°C 30 a 65% HR	Igual que en ISO-Clase 5
Clase C (ISO-Clase 7)	Mezclado, homogeneizado de principios activos que serán estériles. Extracción, purificación de fármacos obtenidos a partir de cultivos celulares/fermentación.		352 000 / 3 520 000	2 900 / 29 000	c/6 meses a excepción de llenado de soluciones con esterilización terminal que se realice c/3 meses ^d	<50/placa ^{b.1} <100/m ³ ^{b.2} <25/placa ^{b.3}	>10 Pa	20 a 50	18°C a 25°C 30 a 65% HR	Uniforme de planta limpio; cabello, yello facial y corporal cubierto, cubrebocas y guantes
Clase D (ISO-Clase 8)	Cuartos de aisladores. Mezclado, homogeneizado, envasado/llenado de principios activos No estériles		3 520 000 / n.a.	29 000 / n.a.	c/6 meses	<100/placa ^{b.1} <200/m ³ ^{b.2} <50/placa ^{b.3}	>5 Pa Presión negativa donde se generan polvos con respecto a los cuartos adyacentes y positiva con respecto a donde no se generan polvos	10 a 20	18°C a 25°C 30 a 65% HR	Uniforme de planta limpio; cabello, yello facial y corporal cubierto, cubrebocas y guantes
ISO-Clase 9	Entorno de ISO-Clase 8.		35 200 000 / n.a.	293 000 / n.a.	Anualmente	n.a.	Presión positiva con respecto a áreas no clasificadas.	n.a.	18°C a 25°C	Uniforme de planta limpio; cabello cubierto.

NOTAS:

- a) Los ejemplos aquí señalados son enunciativos mas no limitativos.
- b) El monitoreo microbiológico debe efectuarse empleando los siguientes métodos:
 - b.1) Placa de sedimentación de 90 mm de diámetro, con exposición no menor a 30 minutos y no mayor a 4 horas.
 - b.2) Muestreo de aire.
 - b.3) Placa de contacto 55 mm de diámetro.
 - b.4) Muestreo de Guantes en 5 dedos.
- c) La zona de flujo unidireccional debe cumplir con parámetro de velocidad de flujo $0.45 \text{ m/s} \pm 20\%$.
- d) Puede realizarse con menor frecuencia de acuerdo al mantenimiento del estado validado.
- e) Podrá ser realizado al menos en ISO-Clase 8 siempre y cuando se soporten con estudios de validación.
- f) Los cuartos clasificación ISO-Clase 5 deben cumplir con estos parámetros, no aplica para módulos de flujo unidireccional.
- g) Los límites de partículas dadas en la tabla para condición estática pueden alcanzarse después de un corto periodo de limpieza de 15 a 20 minutos después de concluir la operación y sin operarios.
- h) Los tamaños de muestra tomados con propósitos de monitoreo están dados en función del sistema de muestreo usado y no necesariamente el volumen de la muestra de monitoreo será la misma que la cantidad de aire tomada durante la clasificación formal del cuarto.
- i) Este parámetro puede ser un indicador del adecuado diseño del sistema, por tanto, si no existe cumplimiento al rango establecido en la tabla, debe investigarse y efectuarse la justificación técnica que evidencie que no existen fallas inherentes al diseño de las áreas

10.4 Infografías para desinfectantes según la epa.

6 Pasos para el uso seguro y efectivo de los desinfectantes



Paso 1: Verifique que su producto esté aprobado por la EPA

Encuentre el número de registro de la EPA en el producto. Entonces, verifique si está en la lista de la EPA para desinfectantes aprobados en: epa.gov/listn.



Paso 2: Lea las instrucciones

Siga las instrucciones del producto. Busque "sitios de uso" y "tipos de superficie" para ver dónde puede usar el producto. Siga las "declaraciones preventivas".

Paso 3: Limpie la superficie previamente

Asegúrese de lavar la superficie con jabón y agua si las instrucciones indican limpiar previamente o si la superficie se ve visiblemente sucia.



Paso 4: Siga el tiempo de contacto

Puede encontrar el tiempo de contacto en las instrucciones. La superficie debe permanecer mojada el tiempo completo para asegurar que el producto sea efectivo.

Paso 5: Use guantes y lávese las manos

Para guantes desechables, descártelos después de cada limpieza. Para guantes reutilizables, dedique un par de guantes para desinfectar el COVID-19. Lávese las manos después de quitarse los guantes.



Paso 6: Guárdelos bajo llave

Mantenga las tapas de estos productos firmemente sellados y almacénelos fuera del alcance de los niños.

espanol.epa.gov/coronavirus

LIMPIEZA Y DESINFECCIÓN

Prácticas recomendadas durante la pandemia de COVID-19

Buena idea

Siga las pautas de salud pública locales, estatales y de los CDC

Según los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC), el COVID-19 se transmite principalmente a través del aire. Se cree que el riesgo de contraer el virus por tocar una superficie contaminada es bajo.



Tenga cuidado

Tenga cuidado al usar desinfectantes cerca de personas con asma

Los desinfectantes pueden provocar un ataque de asma. Si tiene asma, es posible que deba tomar precauciones adicionales, como evitar áreas donde haya gente limpiando y desinfectando o asegurarse de que el espacio esté bien ventilado.



No lo haga

No pida a niños ni a estudiantes que apliquen desinfectantes

Los desinfectantes son herramientas poderosas para controlar la propagación de enfermedades y, si se usan o guardan incorrectamente, pueden dañar la salud de los niños. Ni los niños ni los estudiantes deben aplicar desinfectantes, estos deben mantenerse fuera del alcance de los niños.



Limpie las superficies con agua y jabón

La limpieza habitual normal con agua y jabón reduce el riesgo de propagar el COVID-19 al eliminar los gérmenes y la suciedad de las superficies. En la mayoría de los casos, la limpieza es suficiente para reducir el riesgo.



Tenga cuidado al usar nebulizado, fumigación y rociado electrostático o en áreas amplias

Asegúrese de que la etiqueta de su producto incluya instrucciones sobre el método de aplicación. Siga todas las instrucciones, incluidas las precauciones. Si un producto no está etiquetado para estos métodos de aplicación, usarlo de esa manera puede ser riesgoso o ineficaz.



No ignore las instrucciones de la etiqueta

Si no sigue las instrucciones de la etiqueta, los productos desinfectantes pueden ser ineficaces o peligrosos. No aplique desinfectantes en la piel, a mascotas o a alimentos. No diluya los desinfectantes ni los mezcle con otros productos químicos a menos que se lo indique la etiqueta. No crea que el doble de la cantidad hará el doble de trabajo.



Use desinfectantes registrados por la EPA de acuerdo con las instrucciones de la etiqueta

Los desinfectantes reducen aún más el riesgo de propagar el COVID-19 mediante el uso de productos químicos que matan los gérmenes. Use desinfectantes en las superficies que se tocan con frecuencia cuando sepa o sospeche que alguien cercano a usted tiene COVID-19.

Tenga cuidado con las luces ultravioleta o los generadores de ozono

Las luces ultravioleta o los generadores de ozono pueden ser riesgosos o ineficaces. La EPA no puede verificar si o cuándo es apropiado utilizar estos dispositivos. Consulte la guía en: [go.usa.gov/xHc8q](https://www.epa.gov/xHc8q)



No use desinfectantes no registrados

Si un producto dice que mata el SARS-CoV-2 (COVID-19), pero no tiene un número de registro de la EPA, puede que no sea seguro o eficaz. Las leyes federales exigen que los desinfectantes estén registrados ante la EPA.



Para conocer las pautas de salud pública de los CDC, visite: [go.usa.gov/xHc8q](https://www.cdc.gov)
Para obtener información sobre desinfectantes, visite: [epa.gov/coronavirus](https://www.epa.gov/coronavirus)

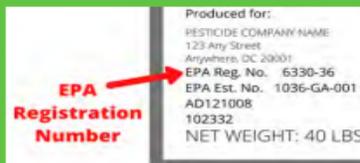
Abril de 2021

WHICH DISINFECTANTS KILL COVID-19?

FIND OUT AT [EPA.GOV/LISTNTOOL](https://www.epa.gov/listntool)

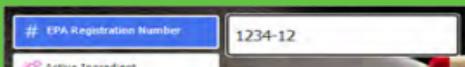
EPA expects all products on List N to kill SARS-CoV-2, the specific coronavirus that causes COVID-19

I already have a product. Does it kill SARS-CoV-2?



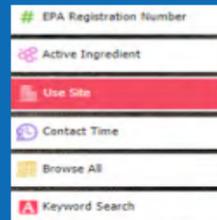
Find the EPA Registration Number on the label

Enter only the first two parts of the Registration Number



If that number is on List N, EPA expects the product to kill SARS-CoV-2 ✓

I need to find a product to kill SARS-CoV-2.



Use List N's Search Tool to browse products

Use the first two parts of the EPA registration number when searching for products to purchase

EPA. Reg. No. 1234-12

If you need a more advanced search, choose "Export to CSV." Use Excel, Sheets, or Numbers to filter ✓

WHY FOCUS ON THE FIRST TWO PARTS OF THE EPA REG. NO.?

EPA registration numbers have two or three parts:

Who registered this product with EPA?

1234

Which product is it?

12

Who is distributing the product?

1

The first two parts of the registration number identify the product

WHAT IF THE COMPANY AND PRODUCT NAMES DON'T MATCH?

Disinfectants can be marketed and sold under different product and brand names.

When using List N, use the first two parts of the EPA registration number - not the product name - to identify products

If the first two parts of the EPA Reg. No. match, the products have the same chemical composition and efficacy

INSIDE
Same formulation and efficiency

OUTSIDE
Different brand and product names

	Disinfectant A EPA. Reg. No. 1234-12-1	
	Disinfectant B EPA. Reg. No. 1234-12-2	
	Disinfectant C EPA. Reg. No. 1234-12-3	
	Disinfectant D EPA. Reg. No. 1234-12-4	

WHY ARE THERE OTHER PATHOGENS ON LIST N?

I ONLY NEED TO KILL THE CORONAVIRUS SARS-COV-2 (COVID-19).

To kill SARS-CoV-2 (COVID-19), follow disinfection directions for the following virus(es)

Poliovirus

Norovirus

Canine parvovirus;

If a product is on List N, you can use it against SARS-CoV-2...

Regardless of whether this column lists poliovirus, norovirus, or some other pathogen.

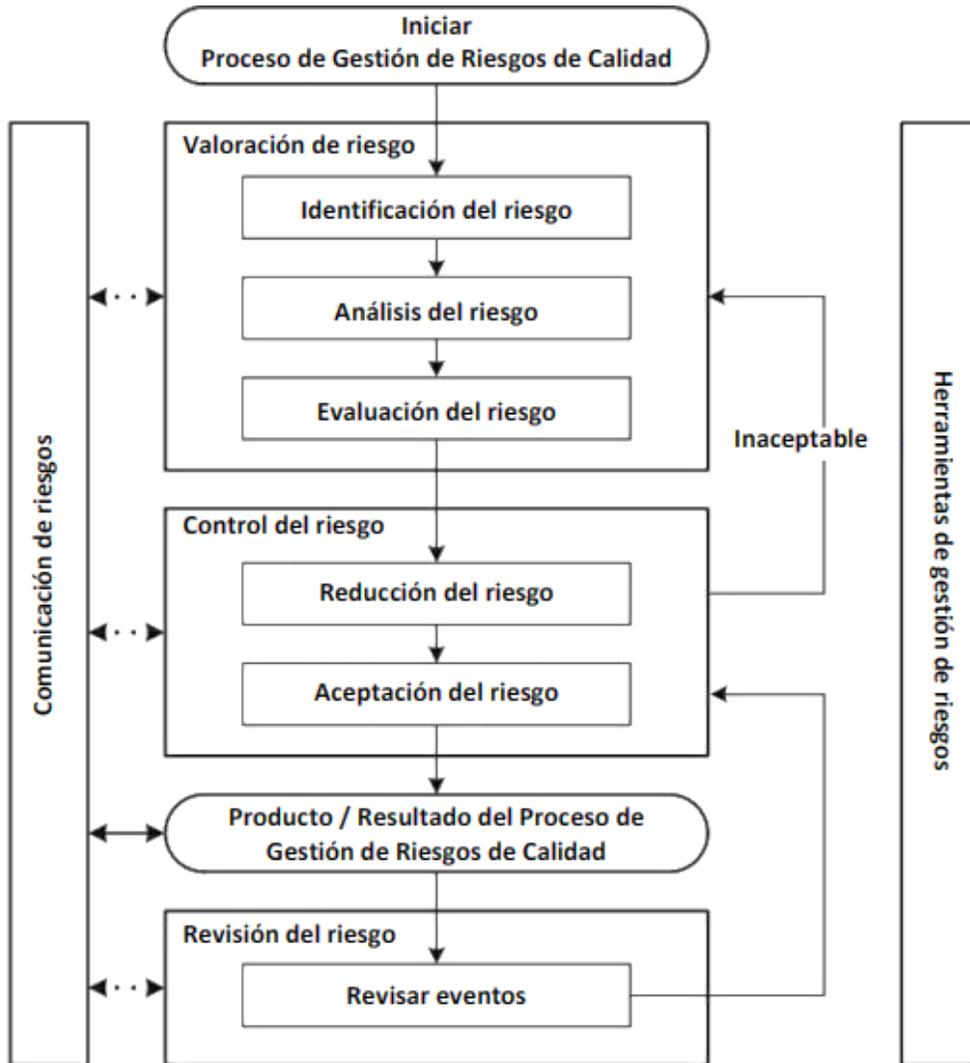
Disinfectants may have different directions for different pathogens

To kill SARS-CoV-2, follow the directions on the product's label for killing the pathogen specified on List N

GESTION DE RIESGOS DE CALIDAD

El nuevo Anexo 20 de las GMP corresponde a la directriz ICH Q9 sobre Gestión de Riesgos de Calidad. Proporciona orientación sobre un enfoque sistemático para la gestión de riesgos de calidad que facilite el cumplimiento de las GMP y demás requisitos de calidad. Incluye principios que se utilizarán y opciones para procesos, métodos y herramientas que se pueden usar cuando se aplica un enfoque formal de gestión de riesgos de calidad.

Figura 1: Visión general de un proceso típico de gestión de riesgos de calidad 16.



Los nodos de decisión no se muestran en el diagrama anterior ya que las decisiones pueden ocurrir en cualquier punto del proceso. Estas decisiones podrían ser para volver a la etapa anterior y buscar más información, para ajustar los modelos de riesgo o incluso dar por terminado el proceso de gestión de riesgos basado en la información que respalda tal decisión. Nota: “Inaceptable” en el diagrama de flujo no sólo se refiere a los requisitos legales, legislativos o regulatorios, sino también a la necesidad de regresar al proceso de valoración de riesgos.

Algunas de las principales herramientas que podrían utilizarse en la gestión de riesgo de calidad de la industria y los reguladores se enlistan enseguida.

I.1 Métodos Básicos de Facilitación de Gestión de Riesgos

Algunas de las técnicas simples que se usan comúnmente para la estructura de gestión de riesgos mediante la organización de los datos y facilitar la toma de decisiones son:

- Diagramas de flujo
- Hojas de verificación
- Mapeo de Procesos
- Diagramas de causa y efecto (también llamados diagramas de espina de pescado o diagrama de Ishikawa)

I.2 Análisis de Efectos y Modo de Falla (AMEF)

El AMEF (ver IEC 60812) proporciona una evaluación de los modos de fallo potenciales de los procesos y su probable efecto en los resultados y/o desempeño del producto. Una vez establecidos los modos de fallo, la reducción del riesgo se puede utilizar para eliminar, contener, reducir o controlar los posibles fallos. El AMEF se basa en la comprensión de productos y procesos. El AMEF metódicamente rompe el análisis de procesos complejos en pasos manejables. Es una herramienta poderosa para resumir los modos importantes de fallo, factores que causan estas fallas y los posibles efectos de las mismas.

I.3 Análisis de Modo de Falla, Efectos y Criticidad (FMECA)

El AMEF podría ampliarse para incorporar una investigación sobre el grado de gravedad de las consecuencias, sus respectivas probabilidades de ocurrencia y su detectabilidad,

convirtiéndose así en un Análisis de Modo de Falla, Efectos y Criticidad (FMECA; véase IEC 60812).

I.4 Análisis del Árbol de Fallos (FTA)

La herramienta FTA (véase IEC 61025) es un enfoque que asume la falla de la funcionalidad de un producto o proceso. Esta herramienta evalúa las fallas del sistema (o subsistema) de una en una, pero puede combinar múltiples causas de fallo mediante la identificación de cadenas causales. Los resultados se representan gráficamente en la forma de un árbol de modos de fallo. En cada nivel en el árbol, las combinaciones de modos de fallo se describen con operadores lógicos (AND, OR, etc.). El FTA se basa en la comprensión de los expertos del proceso para identificar los factores causales. El FTA se puede utilizar para establecer la vía a la causa raíz de la falla.

I.5 Análisis de Peligros y Puntos Críticos de Control (HACCP)

HACCP es una herramienta sistemática, proactiva y preventiva para asegurar la calidad, la fiabilidad y la seguridad del producto (ver Serie de Informes Técnicos OMS No 908, 2003 Anexo 7).

Es un enfoque estructurado que aplica principios técnicos y científicos para analizar, evaluar, prevenir y controlar el riesgo de consecuencia(s) adversa(s) de peligro(s) debido al diseño, desarrollo, producción y uso de los productos.

HACCP consiste en los siguientes siete pasos:

1. realizar un análisis de riesgos e identificar medidas preventivas para cada paso del proceso;
2. determinar los puntos críticos de control;
3. establecer límites críticos;
4. establecer un sistema para vigilar los puntos críticos de control;
5. establecer las medidas correctivas a tomar cuando el monitoreo indica que los puntos críticos de control no se encuentran en un estado de control;
6. establecer un sistema para verificar que el sistema HACCP está funcionando eficazmente;
7. establecer un sistema de registro.

Áreas potenciales de uso(s) HACCP podría ser utilizado para identificar y gestionar los riesgos asociados con los peligros físicos, químicos y biológicos (incluida la contaminación microbiológica). HACCP es más útil cuando la comprensión del producto y proceso es suficientemente amplia para apoyar la identificación de los puntos críticos de control.

El resultado de un análisis HACCP es la información de gestión de riesgos que facilita el seguimiento de los puntos críticos, no sólo en el proceso de fabricación, sino también en otras fases del ciclo de vida.

I.6 Análisis de Peligros y Operabilidad (HAZOP)

HAZOP (ver IEC 61882) se basa en una teoría que asume que los eventos de riesgo son causados por desviaciones del diseño o intenciones de operación. Es una técnica sistemática de lluvia de ideas para identificar peligros usando las llamadas “palabras guía”. Las “palabras-guía” (por ejemplo, No, Más, Además de, Parte de, etc.) se aplican a los parámetros pertinentes (por ejemplo, contaminación, temperatura) para ayudar a identificar posibles desviaciones del uso normal o intenciones de diseño. A menudo utiliza un equipo de personas con pericia cubriendo el diseño del proceso o producto y su aplicación.

Áreas potenciales de uso(s) HAZOP se puede aplicar a los procesos de fabricación, incluyendo la producción subcontratada y la formulación, así como la de proveedores arriba en la cadena productiva, equipos e instalaciones de los principios y productos farmacéuticos (medicamentos).

También se ha utilizado principalmente en la industria farmacéutica para la evaluación de los peligros de seguridad de proceso. Como es el caso con el HACCP, el resultado de un análisis HAZOP es una lista de operaciones críticas para la gestión del riesgo. Esto facilita el seguimiento periódico de los puntos críticos del proceso de fabricación.

I.7 Análisis de Peligro Preliminar (PHA)

PHA es una herramienta de análisis basada en la aplicación de la experiencia o el conocimiento de un peligro o falla para identificar peligros, situaciones y eventos peligrosos

futuros que pudieran causar daño, así como para estimar su probabilidad de ocurrencia para una actividad, instalación, producto o antes sistema.

La herramienta consiste en:

- 1) la identificación de las posibilidades de que el evento de riesgo ocurra,
- 2) la evaluación cualitativa de la magnitud de posibles lesiones o daños a la salud que puede provocar
- 3) una clasificación relativa del peligro utilizando una combinación de gravedad y probabilidad de ocurrencia,
- 4) la identificación de las posibles medidas correctivas.

Áreas potenciales de uso(s) PHA podría ser útil en el análisis de los sistemas existentes o priorizar los riesgos cuando las circunstancias impidan la utilización de una técnica más extensa. Se puede utilizar para diseño de producto, proceso e instalaciones, así como para evaluar los tipos de peligros para el tipo general de los productos, luego la clase de producto y finalmente el producto específico. PHA es más comúnmente utilizada a inicios del desarrollo de un proyecto cuando hay poca información sobre los detalles de diseño o procedimientos de operación; por lo tanto, a menudo será un precursor de estudios adicionales. Por lo general, los riesgos identificados en el PHA se valoran más profundamente con otras herramientas de gestión de riesgos, como las de esta sección.

I.8 Clasificación y Filtrado de Riesgos

La clasificación y el filtrado de riesgos es una herramienta para comparar y clasificar los riesgos. La clasificación de riesgos de los sistemas complejos normalmente requiere la evaluación de múltiples y diversos factores cuantitativos y cualitativos para cada riesgo.

La herramienta consiste en romper una pregunta básica de riesgo en tantos componentes como sea necesario para capturar factores implicados en el riesgo. Estos factores se combinan en una única puntuación de riesgo relativo que luego se puede utilizar para la clasificación de riesgos. Se pueden utilizar “Filtros”, en forma de factores de ponderación o puntos de corte para las puntuaciones de riesgo, para escalar o hace encajar la clasificación de riesgos en los objetivos de gestión o de políticas.

I.9 Herramientas estadísticas de apoyo

Las herramientas estadísticas pueden apoyar y facilitar la gestión de riesgos de calidad. Pueden permitir la valoración eficaz de los datos, la ayuda en la determinación de la importancia del(los) conjunto(s) de datos y facilitar una toma de decisión más confiable. Se proporciona un listado de algunas de las herramientas estadísticas principales que comúnmente se utilizan en la industria farmacéutica:

(i) Gráficos de Control, por ejemplo:

- Gráficos de Control de Aceptación (véase ISO 7966)
- Gráficos de Control con Promedio Aritmético y Límites de Advertencia (véase ISO 7873)
- Gráficos de Suma Acumulativa (véase ISO 7871)
- Gráficos de Control Shewhart (véase ISO 8258)
- Promedio Móvil Ponderado

(ii) Diseño de Experimentos (DOE)

(iii) Histogramas

(iv) Gráficas de Pareto

(v) Análisis de Capacidad de Proceso

10.6 Anexo RMM Identificación de microorganismos

COMPañÍA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIÓN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
mbc	GRAM ^{RAY}	Espectroscopia Raman LED de tinción e imagen de viabilidad	Identificación y enumeración.	3-10 min	> 150 muestras por 8 h	Células de un cultivo líquido, o de producto/ Materia prima o superficie.	Una célula es identificada y cuantificada	> 30 bacterias; pueden adicionarse nuevas entradas de muestras.	El material de la muestra se recoge en una lámina metálica. La tinción de viabilidad y el análisis automatizado de imágenes mediante iluminación de campo oscuro detectan la cantidad, la forma y el tamaño de las partículas viables de 0.5 µm o más. A continuación, se realiza una espectroscopia Raman en cada partícula viable, y se proporciona una firma espectral. Las firmas espectrales se correlacionan estadísticamente con una biblioteca de microorganismos conocidos. No es destructivo para su posterior análisis.
Biolog	OmniLog; MicroStation; MicroLog	Crecimiento basado en el uso de carbohidratos	Identificación	2-72 h	50 por día	Células de las colonias	NA	>1226 bacteria y >885 levaduras / hongos (tarjetas GEN II) >1000 bacteria (tarjetas GEN III)	Las células de las colonias aisladas se utilizan para preparar una suspensión microbiana, que luego se añade a tarjetas de prueba específicas que contienen una variedad de carbohidratos y un colorante indicador de tetraxolo violeta. Si se produce el crecimiento, el límite se vuelve de color violeta. Los patrones de color resultantes se comparan con una biblioteca interna. La tinción de Gram es necesaria cuando se utilizan las tarjetas de prueba GEN II para bacterias, levaduras y mohos. No se requiere la tinción de Gram para la tarjeta bacteriana GEN III (identifica tanto las bacterias Gram + como las Gram -).
Sistema de Diagnóstico BD	Phoenix	Crecimiento basado en reacciones bioquímicas y susceptibilidad a antibióticos	Identificación	3 h	100 por día	Células de las colonias	NA	>225 bacterias	Las células de las colonias aisladas se utilizan para preparar una suspensión microbiana, que luego se añade a tarjetas de prueba específicas que contienen sustratos (en pocillos) para su utilización bioquímica. Los cambios de color o fluorescencia en cada pocillo se comparan con una biblioteca interna. La tinción de Gram es necesaria para determinar la tarjeta de prueba correcta que se debe utilizar.
BioMérieux	Vitek 2 Compact	Crecimiento basado en reacciones bioquímicas y en el uso de carbohidratos	Identificación	2-18 h	30-60 por día	Células de las colonias	NA	>285 bacteria >48 Levaduras	Las células de las colonias aisladas se utilizan para preparar una suspensión microbiana, que luego se añade a tarjetas de prueba específicas que contienen sustratos para la utilización enzimática, la acidificación de carbohidratos y otras pruebas. Los cambios de color o turbidez en cada pocillo se miden cada 6 minutos y los resultados se comparan con una biblioteca interna. Se requiere una tinción de Gram para determinar la tarjeta de prueba correcta que se debe utilizar.
MDI	Sherlock MS	Detección de ácidos grasos	Identificación	Método estándar (2h) Método FAME (<15 min)	100 por día	Células de las colonias	NA	>1,200 bacteria >200 Levadura/hongos	Los ácidos grasos se extraen de células procedentes de colonias aisladas. Los ácidos grasos se purifican y se analizan mediante cromatografía de gases. El cromatograma GC resultante se compara con una biblioteca interna. No es necesaria la tinción de Gram.
Applied Biosystems	MicroSEQ	PCR y secuenciación de genes	Identificación	4-5 h	80 por día. Mayor con analizadores capilares de mayor capacidad.	Células de las colonias aisladas	NA	>1800 bacterias >90 Micoplasmas >1100 levaduras y mohos	El ADN se extrae de células procedentes de colonias aisladas. Amplificar el ADN r 6S objetivo para las bacterias o la región D2 del ADN r de subunidad grande para los hongos mediante PCR. Realice la secuenciación de los amplicones de la PCR, lo que da lugar a fragmentos de ADN de varios tamaños que terminan en diferentes nucleótidos/señales. Un analizador genético separa los fragmentos por tamaño y un láser detecta el color de fluorescencia de cada colorante, produciendo una secuencia genética completa del ADN objetivo. La secuencia resultante se compara con una base de datos interna de secuencias conocidas. No es necesaria la tinción de Gram.

COMPañÍA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIÓN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
ceeram	ceeramTools Genotyping Kits LP	MLVA (Análisis Multi Locus VNTR)	Genotipificación	2 días	100 muestras en 2 días	DNA o cultivo celular	NA	Legionella pneumophila, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa	El MLVA es un método de tipificación basado en la PCR que se basa en la variabilidad inherente que se encuentra en muchas regiones de ADN repetitivo denominadas VNTR (Variable Number Tandem Repeat) que representan fuentes de polimorfismo. El ensayo MLVA para S. pneumoniae examina 16 loci y el ensayo MLVA para L. pneumophila examina 16 loci. Así, cada aislado se define por un código numérico de 12 o 16 dígitos que corresponde al número de repeticiones en cada VNTR. La amplificación eficiente de los marcadores se realiza en una o dos reacciones de PCR multiplex. Se requiere un secuenciador ABI para analizar los amplicones.
Hygiene	Riboprinter	Ribotipado de fragmentos de ADN	Identificación	8 h	32 por día	Células de la colonia	NA	>1,440 bacteria >8,500 patrones de cepas o sub-species	El ADN se extrae de células procedentes de colonias aisladas. El ADN se corta en fragmentos utilizando una enzima de restricción, que luego se separan según el tamaño. El ADN se inmoviliza en una membrana de nailon, se desnaturaliza para producir un ADN monocatenario y luego se hibrida con una sonda de ADN (derivada de un operón de ARN de E. coli). Un conjugado anticuerpo-enzima se une a la sonda y se añade un patrón de quimioluminiscente, dando como resultado un patrón de bandas que se compara con una base de datos interna. Totalmente automatizado, no requiere tinción de Gram.
Greiner Bio-One	Cytohspcct	Análisis de PCR y microarray	Detección de micoplasma e identificación	5h	100 por día	Cultivo celular	NA	Detección de > 90 especies de Micoplasma e identificación de 40 especies de Micoplasma	Un kit de prueba basado en un microarray para la detección e identificación de especies de micoplasma en cultivos celulares y otros materiales biológicos. Se extrae el ADN y se realiza la PCR utilizando cebadores específicos para regiones conservadas y específicas de la especie del espaciador transcrito intergénico (ITS) del ADN de Micoplasma. A continuación, los fragmentos marcados con fluorescencia se hibridan en el chip de microarrays. El chip contiene sondas para objetivos específicos de cada especie y una sonda universal para todos los micoplasmas.
Pathogenetik, Inc.	RESOLUTION® Microbial Genotyping System	Marcado fluorescente de moléculas individuales de ADN genómico	Identificación, análisis de mezclas microbianas, epidemiología, rastreo de fuentes de contaminación	3.5 -4.5 h	50 muestras por 24 h.	10 ⁷ - 10 ⁸ células en 0,1 - 5 mL de cultivo de la colonia	0,1% del microorganismo target mezclado con otras bacterias	Más de 1,000 organismos, incluyendo bacterias, levaduras, hongos y micoplasmas. La librería puede ser personalizada	La gradilla de tubos con células suspendidas se introduce en un Módulo de Preparación de Muestras automatizado para ser procesado en paralelo. El módulo aísla y purifica el ADN, lo digiere específicamente, marca el ADN con sondas fluorescentes y eluye las muestras para su medición consecutiva en el módulo detector microfluidico. Los fragmentos de ADN genómico se estiran y las firmas fluorescentes generadas por las sondas se miden una a una. Cada firma se compara con la base de datos interna para identificar un aislado o dilucidar la composición de la mezcla microbiana.
Battelle	REBS	Espectroscopia RAMAN	Identificación y enumeración.	3 min.	160 cada 8 h	Células de la colonia, medio líquido, producto /materia prima, superficies	Una célula es identificada y cuantificada	Alcaligenes, Pseudomonas, Brevibacterium, Candida, E. coli, Bacillus, Ralstonia, formas vegetativas y esporuladas.	El material de la muestra se retiene en una lámina soportada. La zona se examina en busca de partículas microscópicas mediante espectroscopia Raman y se proporciona una firma espectral para cada partícula. Las firmas espectrales se correlacionan estadísticamente con una biblioteca de microorganismos conocidos. No es necesaria la tinción de Gram. Los cultivos mixtos pueden ser identificados y numerados. No es destructivo para su posterior análisis.

COMPañIA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACION	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
BoMérieux	Vitek MS	MALDI TOF espectroscopia de masas	Identificación	2 min	480 cada 8 h	Células de las colonias	NA	508 bacterias 78 hongos	Las células procedentes de colonias aisladas o del medio líquido se añaden a una placa objetivo de acero inoxidable y se dejan secar. Se añade una matriz que absorbe la radiación UV y las células se ionizan con un láser. Las partículas ionizadas se aceleran en un campo eléctrico y entran en el tubo de tiempo de vuelo (TOF), donde las moléculas de proteínas y péptidos se separan según su relación masa/carga. El espectro de masas MALDI-TOF resultante se compara con una base de datos interna. No es necesaria la tinción de Gram. Es posible la identificación de cultivos mixtos.
Bruker Daltonics	MALDI Biotyper	MALDI TOF espectroscopia de masas	Identificación	1-2 min	30-60 por hora	Células de las colonias o de muestra líquida.	NA	> 2,000 especies and > 4,010 cepas de bacterias, levaduras y hongos	Las células procedentes de colonias aisladas o del medio líquido se añaden a una placa objetivo de acero inoxidable y se dejan secar. Se añade una matriz que absorbe la radiación UV y las células se ionizan con un láser. Las partículas ionizadas se aceleran en un campo eléctrico y entran en el tubo de tiempo de vuelo (TOF), donde las moléculas de proteínas y péptidos se separan según su relación masa/carga. El espectro de masas MALDI-TOF resultante se compara con una base de datos interna. No es necesaria la tinción de Gram. Es posible la identificación de cultivos mixtos.
Bruker Daltonics	SENSOR 27 +HTS-XT	Espectrometría infrarrojas por transformada de Fourier (FT-IR)	Identificación	Mnutos	Muestreo continuo en placas con formato de 96 y 384 muestras.	Células de las colonias	NA	Levaduras, bacilos, Coryneformes, Micrococos, Staphylococos, Bifidos, Clostridia, Pseudomonas, Lactobacillos, Acetobactereaceae	Los microorganismos se recogen del medio de cultivo, se suspenden en agua y se transfieren a una placa especial de muestras reutilizable y transparente a los infrarrojos. La medición se realiza tras el secado de las muestras. La bio película seca se analiza entonces con el lector de microplacas FT-IR. El espectro FT-IR se compara entonces con una biblioteca interna.
Thermo Scientific	Nicolet	Espectrometría infrarrojas por transformada de Fourier (FT-IR)	Identificación	2 h	350 por día	Células de colonias	NA	Bacterias	Las células de las colonias aisladas se incuban en medio líquido durante 18 horas seguidas de lavado, centrifugado y resuspensión en agua destilada. Se transfieren 50 µL de la suspensión a una placa especial de muestras reutilizable y transparente al IR y se secan a 40-45°C al vacío para crear una bio película. A continuación se analiza la bio película y se identifican y cuantifican biomoléculas como proteínas, lípidos, carbohidratos y ADN/ARN. El espectro FT-IR se compara entonces con una biblioteca interna.

10.7 Anexo RMM Análisis cualitativo (detección de microorganismos: presencia/ausencia)

COMPANÍA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIÓN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
Bactest	Speedy Bready	Respirometría, detección de presión	Detección de crecimiento microbiano; pruebas de esterilidad; presencia de organismos específicos	4-20 h	2-4 por día	Más de 50 ml	Una UFC después del enriquecimiento	Bacterias: anaerobias facultativas, anaerobias aerobias, y microaerofílicas y levaduras	La muestra se transfiere a un recipiente desechable que contiene un medio generalo selectivo. A continuación, el recipiente se coloca en el respirómetro portátil y se incuba para fomentar el crecimiento microbiano. La detección de la actividad metabólica viene determinada por los transitorios de presión relacionados con los intercambios gaseosos dentro del recipiente de cultivo cerrado como resultado de la respiración microbiana. Los datos continuos recogidos se analizan en tiempo real, y los algoritmos de detección pro cesan los transitorios de presión para alertar cuando se han producido cambios significativos. El instrumento mide tanto la presión positiva como la negativa, lo que significa que la supervisión puede realizarse en una serie de procesos microbianos que reaccionan a diferentes condiciones dentro de la cámara de cultivo. El sistema es aplicable a productos farmacéuticos, materias primas, alimentos y bebidas, productos veterinarios, domésticos y de higiene.
Sistema de Diagnóstico BD	BACTEC FX	Crecimiento basado en detección de CO2	Detección de crecimiento microbiano; pruebas de esterilidad	8 - 48 h	240-1200 por periodo de incubación	1-10 ml o g	una UFC después del enriquecimiento	Bacterias, levaduras y hongos.	Las muestras se añaden directamente a las botellas de medios de cultivo líquidos y se incuban en el sistema. Durante el crecimiento microbiano se acumula CO2 en el recipiente cerrado y se detecta mediante un sensor fluorométrico. El sistema controla automáticamente el sensor cada 10 minutos, y la generación de CO2 indica la presencia de microorganismos en crecimiento.
BioMérieux	Sistema BioLumix	Crecimiento basado en detección de CO2 y crecimiento selectivo	Detección de microorganismos específicos y detección de crecimiento microbiano	8 - 48 h	32 pruebas a una temperatura por instrumento. (Pueden usarse hasta 3 instrumentos en una computadora)	0.1 - 10 ml	una UFC después del enriquecimiento	Cuenta total aeróbica, levaduras y hongos, coliformes, E.coli, Bacterias ácido láctico, Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Staphylococcus.	La muestra de ensayo se añade a viales únicos que contienen un medio selectivo y un colorante. Los cambios de color o fluorescencia, expresados como unidades de intensidad luminosa, son detectados por el sensor óptico y representan microorganismos en crecimiento. Los viales de recuento aeróbico total y de levadura/moho total detectan el crecimiento microbiano mediante la monitorización de la generación de CO2, y pueden utilizarse para detectar una estimación de organismo s en una muestra de ensayo que esté por encima o por debajo de una determinada especificación cuantitativa. Pueden analizarse muestras líquidas y sólidas diluidas.
BioMérieux	Bact/ALERT 3D Dual-T	Crecimiento basado en detección de CO2	Detección de crecimiento microbiano; pruebas de esterilidad	24-96 h	480-1440 por periodo de incubación	1-10 ml o g	una UFC después del enriquecimiento	Bacterias, levaduras y hongos.	Se incuban la muestra en el caldo según el tipo de ensayo (por ejemplo, MLT, esterilidad, aerobiosis, anaerobiosis, neutralización del producto). Se coloca una alícuota del enriquecimiento en una cubeta y se carga en el instrumento. El reactivo enzimático luciferina/luciferasa cataliza la conversión del trifosfato de adenosina (ATP) microbiano en ADP y luz. El sistema proporciona una auto matización completa. Si hay suficientes células (y ATP), el ensayo directo puede realizarse en minutos sin necesidad de enriquecer el caldo.

COMPañIA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACION	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
LumByte BV MuScan	Kit de pruebas Innosieve Diagnostics	Tinción de viabilidad y citometría en fase sólida; microscopía de fluorescencia	Carga biológica de la materia prima y de las muestras en proceso, producto terminado, EM, agua, pruebas de esterilidad	10-65 min	100 por 8 h	Muestras filtrables; de 1 µL a 1L	1 - 10 ⁵ cells	Bacterias, levaduras, Hongos esporulados	La muestra de ensayo se filtra/concentra a través de un microtamiz de 0.45µm. Los microorganismos se retienen en la membrana y posteriormente se etiquetan con una tinción de viabilidad y/o una tinción específica de la especie. Están disponibles el recuento total de viables, la proporción total de vivos-muertos, el recuento total de especies específicas y el recuento total de viables de especies específicas. Después de la tinción, se realiza un período de escaneo utilizando la microscopía fluorescente digital MuScan a longitudes de onda de excitación y emisión específicas. El software de procesamiento de imágenes analiza los objetos fluorescentes en función del tamaño, la forma y las señales fluorescentes de todos los microbios. El ensayo puede ser personalizado por el usuario con diferentes tipos de tintes fluorescentes, anticuerpos marcados, sondas de ADN, etc., dependiendo del organismo(s) a detectar. Algunos ejemplos de kits de prueba para organismos específicos son Legionella, Salmonella, Listeria, Chronobacter y E. coli. El método no es destructivo, por lo que los microbios detectados pueden cultivarse posteriormente.
Neogen Corporation	Soleris	Crecimiento basado en detección de CO2 o pH en el medio.	Pruebas microbianas de calidad, deterioro y esterilidad	3-48 h	Hasta 128 por unidad; hasta 4 unidades por ordenador	0,1-5,0 ml	una UFC después del enriquecimiento	Cuenta total aeróbica, esterilidad hongos y levaduras, Coliforms, E. coli, bacterias ácido láctico, Enterobacteriaceae, Pseudomonas, Staphylococcus.	Las muestras se inoculan directamente en un vial que contiene medios listos para usar y un sistema de detección. El ensayo óptico mide el crecimiento microbiano mediante el control del pH o el CO2 que generan un cambio de color a medida que proliferan los microorganismos.
Charles River Laboratories	Endosafe® nexgen-PTS™ Glucan	Ensayo LAL	Detección de glucan	30 min	2 por h.	25µl	10-1000pg/ml	Glucanos de levaduras y hongos	Espectrofotómetro portátil que utiliza cantuchos desechables. Pueba rápida en proceso, diseñada con líneas de investigación para detectar (1,3-H-D glucanos de las paredes celulares de la mayoría de las levaduras y mohos.
Hyllos	Endo LISA	ELISA	Detección de endotoxina	3.5 h	96 muestras cada 3 h	100µl	0.05-500 EU/ml	Endotoxina	Utiliza una microplaca precubierta con una proteína receptora derivada de un fago que tiene una gran afinidad y especificidad por la región central conservada del LPS (endotoxina). Cuando se añade la matriz de la muestra a la microplaca, el LPS se une a la proteína fágica. Cualquier matriz de muestra con componentes potencialmente interferentes se elimina entonces mediante un paso de lavado. La posterior detección mediante el Factor C recombinante y un sustrato de fluorescencia no se ve afectada por los inhibidores, lo que facilita una cuantificación fiable de la endotoxina en la muestra.
Charles River Laboratories	Celisis Advance II™	Bioluminiscencia con ATP	Biocarga en agua, materias primas, muestras en proceso, límites microbianos	1-48 h	120 ensayos por h-	Uso seleccionado	Una UFC después del enriquecimiento	Bacterias, levaduras y hongos.	Se inocula la muestra en el caldo según el tipo de ensayo (por ejemplo, MLT, esterilidad, aerobiosis, anaerobiosis, neutralización del producto). Se coloca una alícuota del enriquecimiento en una cubeta y se carga en el instrumento. El reactivo enzimático luciferina/luciferasa cataliza la conversión del trifosfato de adenosina (ATP) microbiano en ADP y luz. El sistema proporciona una automatización completa. Si hay suficientes células (y ATP), el ensayo directo puede realizarse en minutos sin necesidad de enriquecer el caldo.

COMPañIA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACION	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERIA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
Charles River Laboratories	Celisis Acce®	Bioluminiscencia de ATO con amplificación combinada con enzimas	Prueba de esterilidad, biocarga de agua, materia prima, muestras en proceso límites microbianos	30 min (biocarga) 18-24 hr (PLM) 2-6 days (esterilidad)	30 ensayos por hora	Uso seleccionado	Una UFC después del enriquecimiento	Bacterias, levaduras y hongos.	Se incuba la muestra en el caldo según el tipo de ensayo (por ejemplo, MLT, esterilidad, aerobiosis, anaerobiosis, neurización del producto). Se coloca una alícuota del enriquecimiento en una cubeta y se carga en el instrumento. La presencia de adenilato quinasa microbiana cataliza la conversión de un reactivo que contiene ADP en ATP a niveles significativamente más altos que el ATP microbiano solo. El ATP amplificado se detecta entonces mediante un ensayo de bioluminiscencia basado en luciferina luciferasa, lo que da como resultado un tiempo de obtención de resultados más rápido y una relación señal/ruido más alta que la bioluminiscencia de ATP tradicional. El sistema proporciona una automatización completa.
Promilite BV	Promilite M4A	Bioluminiscencia ATP	Pruebas de esterilidad de productos acabados y materias primas	< 1.72 h	Más de 500 muestras por hora	50 µl de muestra preenriquecida	una UFC después del enriquecimiento	Bacterias, levaduras, Hongos esporulados	Una muestra del producto preenriquecido se añade a una microplaca y se analizará automáticamente en el instrumento Promilite M4A. El instrumento añade reactivos específicos según el ensayo utilizado y convertirá el trifosfato de adenosina (ATP) microbiano en luz. Basándose en los valores de referencia implementados en el software, los resultados de las mediciones se interpretarán mediante un código de colores. De este modo, se proporcionará al usuario una simple respuesta de sí o no con respecto a la esterilidad de la muestra analizada. Se pueden analizar hasta 96 muestras a la vez sin necesidad de ningún paso de preparación de la muestra.
Pall Corporation	GeneDisc® Rapid Microbiology System	qPCR	Evaluación de patógenos (por ejemplo, microorganismos especificados, USP <62>)	De 3 a 8 horas, incluyendo la filtración de la muestra, la preparación del ácido nucleico y la PCR	96 por corrida de PCR	1-300 mL. Protocolo adaptado para muestras sólidas y no filtrables.	una UFC después del enriquecimiento. De 6 a 24 h > 100 UFC sin enriquecimiento previo	E. coli, Salmonella, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Aspergillus brasiliensis, STEC y non-STECS, E. coli 0157, Listeria, Legionella, Enterococcus, Cyanobacteria	Las muestras se filtran y los microorganismos recogidos en la membrana se lisan mediante una combinación de reactivos, sonicación y calentamiento. El ADN y la Mix (polimerasa y desoxinucleótidos) se añaden a la placa GeneDisc, precargada con los cebadores y las sondas. La placa se transfiere al GeneDisc Cycler, y gira a través de cuatro zonas de temperatura durante el proceso de amplificación de la PCR. Cuando la secuencia de ADN objetivo (del microorganismo de interés) se amplifica, la señal fluorescente de la sonda aumenta y se mide en tiempo real. La placa actual viene precargada con 6 sondas para microorganismos especificados en el compendio. El GeneDisc Cycler puede medir la señal fluorescente de cada sonda simultáneamente en tiempo real, lo que permite detectar e identificar positivamente los microorganismos en una sola ejecución de PCR de menos de 1 hora.
BIOTECON	Sistema de control de la higiene	PCR	Detección de bacterias	90 min	160 por día	Células de la colonia	NA	Corynebacterium, Staphylococcus, Micrococcus, Kocuria, and Kytococcus	Las colonias bacterianas que crecen en placas de agar se suspenden en tampón y la suspensión se coloca en un tubo de reacción. Se añaden al tubo de reacción los cebadores, las sondas de transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y la polimerasa Taq. La amplificación y detección de la PCR se lleva a cabo en un sistema basado en carrusel LightCycler 2.0 de Roche mediante fluorescencia, y las curvas de fusión se utilizan para determinar qué objetivo

10.8 Anexo RMM Análisis cuantitativo (enumeración de microorganismos)

COMPañÍA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIÓN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
LumiByte BV MuScan	Rastreador de colonias	Basado en el crecimiento; detección automática de microcolonias en crecimiento	Pruebas de esterilidad, biocarga, agua y monitoreo ambiental	Resultados positivos en horas	6-17 por lote	Muestras estándar	1 UFC	Bacterias, levaduras hongos.	Las muestras se preparan de la misma manera que el cultivo tradicional. Las muestras (placas de Petri estándar más un soporte) se colocan en el CTV (incubador insite). EICTV monitoriza las muestras en múltiples puntos temporales y las microcolonias se identifican cuando se detecta el crecimiento. El principio de detección es la imagen óptica de largo tiempo. Se notifica cuando el número de microcolonias supera un nivel de umbral personalizado. Los objetos que no crecen son ignorados.
Milipore	Miliflex Quantum	Basado en el crecimiento; tinción de viabilidad y fluorescencia celular	Biocarga de la materia prima y de las muestras en proceso, producto terminado, EM, agua, esterilidad	24-48 h	60 por día	Muestras filtrables	1 UFC después de crecimiento	Bacterias, levaduras hongos.	Se filtra la muestra e incuba la membrana en un casete de agar para formar microcolonias. Añadir sustrato no fluorescente e incubar 30 minutos más. Dentro de la célula, el sustrato se escinde enzimáticamente, liberando un fluorocromo libre en el citoplasma del microorganismo. A medida que el fluorocromo se acumula en el interior de las células, la señal se amplifica de forma natural. La membrana se coloca en un lector y se expone a la longitud de onda de excitación del fluorocromo. A continuación, se enumeran automáticamente las microcolonias fluorescentes. No es destructivo - puede seguir incubando medios para obtener colonias para la identificación microbiana.
bioMérieux	EvigSight™ Compact TOTAL VISION	Sin crecimiento ni tinción; imágenes de gran aumento	Análisis de biocarga de materias primas, producto en proceso y terminado, y de agua.	24-48 h	240 por 48 h	Muestras que se puedan filtrar.	Una célula después de crecida	Bacterias, levaduras y hongos	Las muestras se preparan según el método comprendido (filtración por membrana o inoculación directa en medio sólido). El sistema incuba las placas (de 20 a 55°C) y adquiere automáticamente imágenes de gran aumento (X50) de las microcolonias. El software de procesamiento de imágenes analiza la información sobre el tamaño y la forma y proporciona una enumeración para cada placa cada 30 minutos. El sistema no es destructivo, lo que permite realizar un análisis de seguimiento.
bioMérieux	Chemunex D- Count, BactiFlow and BactiFlow ALS	Tinción de viabilidad y citometría de flujo	Carga biológica de muestras de materias primas, producto en proceso, y producto terminado, EM, agua	30 min	15 por h (BactiFlow) 25 por h (BactiFlow ALS) 50 por h (D-Count)	Líquidos, usualmente menos de 1 ml	10-50 células	Bacterias, levaduras y hongos	Las células viables de una muestra líquida se marcan con un sustrato no fluorescente. Dentro del citoplasma de las células metabólicamente activas, el sustrato es escindido enzimáticamente (por la esterasa) para liberar un fluorocromo. Las células con membranas intactas retendrán la etiqueta fluorescente. Los organismos marcados pasan por un láser de iones de argón en la célula de flujo. Dos detectores de fluorescencia proporcionan una enumeración en células por mL.
bioMérieux	Chemunex ScanRDI	Tinción de viabilidad y citometría de flujo	Carga biológica de muestras de materias primas, producto en proceso, y producto terminado, EM, agua	1.5 - 3 h	30 por día	Muestras que se puedan filtrar.	1 célula	Bacterias, levaduras hongos y esporas.	La muestra de ensayo se filtra a través de una membrana de poliéster. Los microorganismos retenidos en el filtro se etiquetan con un sustrato no fluorescente. Dentro del citoplasma de las células metabólicamente activas, el sustrato es escindido enzimáticamente (por la esterasa) para liberar un fluorocromo. Las células con membranas intactas retienen la etiqueta fluorescente. Un láser de argón escanea la superficie de la membrana en 3 minutos y se detectan las células viables. Las partículas autofluorescentes, la fluorescencia de la membrana y el ruido de fondo se rechazan y se informa de un recuento total de viables. Las células viables pueden observarse posteriormente utilizando un microscopio de contraste de fase y una platina automatizada.

COMPañIA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIÓN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAIÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
BioVigilant	IMD-A	Fluorescencia intrínseca y dispersión Me	Monitoreo activo de aire	Tiempo real	Monitoreo continuo o discontinuo	IMD-A. 350 (28.3 L/min) IMD-A. 300 (1.15 L/min)	1 célula	Bacterias, levaduras hongos y esporas.	El aire se introduce en el instrumento. Las partículas que pasan a través de un láser de diodo de 405 nm se clasifican (de 0.5 a 2 1micras) y se enumeran utilizando un contador de partículas de dispersión Me. Al mismo tiempo, las partículas que contienen objetivos biológicos, como el NA DH, la riboflavina y el ácido dipicolínico, se autofluorescen al pasar por el láser, y un detector de fluorescencia separado las registrará como microorganismos viables. El sistema, por lo tanto, proporciona datos simultáneos de viabilidad y de partículas totales por volumen cúbico de aire. Los
BioVigilant	IMD-W	LIF (fluorescencia inducida por luz)	Control y detección de la carga biológica en tiempo real en los sistemas de agua	Tiempo real	10 ml por min.	1 ml, 10 ml, 100 ml, o por un período específico de tiempo	1 célula	B. cepacia, B. dirhinuta, E. coli, M. extorquens, P. aeruginosa, P. fluorescens, R. picketti, S. enterica, S. maltophilia, B. subtilis, S. aureus, A. brasiliensis, C. albicans	Conecte el IMD-W al puerto de muestreo deseado del bucle PW o WiFi para un muestreo continuo 24/7 (o configurelo para muestras de laboratorio de volumen discreto). Haga clic en el inicio de la muestra en la pantalla táctil de la GUI. El IMD-W comienza a medir y registrar los datos de recuento de partículas y biológicos en tiempo real cada segundo. Los datos se escriben inmediatamente en una base de datos SQL interna y en su historiador de datos externo. Obtenga alarmas inmediatas para condiciones fuera de límite. Analice las tendencias de los datos de recuento de partículas y biológicos para ejecutar medidas preventivas basadas en datos.
LumByte BV MuScan	Kit de pruebas Innosieve Diagnostics	Tinción de viabilidad y citometría en fase sólida; microscopía de fluorescencia	Carga biológica de la materia prima y de las muestras en proceso, producto terminado, EM, agua, pruebas de esterilidad	10-65 min.	100 por 8 h	Muestras que se puedan filtrar; 1 ul a 1 l.	1 - 10 ⁵ células	Bacterias, levaduras hongos, esporas.	La muestra que se va a ser muestreada pasa a través de un microtamiz de 0,45um. Los microorganismos se retienen en la membrana y posteriormente se etiquetan con una tinción de viabilidad y/o una tinción específica de la especie. Están disponibles el recuento total de viables, la proporción total de vivos-muertos, el recuento total de especies específicas y el recuento total de viables de período de escaneo utilizando la microscopía fluorescente digital MuScan a longitudes de onda de excitación y emisión específicas. El software de procesamiento de
mbic	GRAM ^{RAY}	Espectroscopia Raman LED de tinción e imagen de viabilidad	Identificación y enumeración.	3-10 min	300-600 IDs por h	Células de la colonia, medio líquido, producto/materia prima, superficies	1 célula es identificada y cuantificada	> 150 entradas de bacterias y esporas; personalizada.	El material de la muestra se recoge en una lámina metálica mediante métodos de impactación o filtración. La tinción de viabilidad y el análisis automatizado de imágenes mediante iluminación de campo oscuro detectan la cantidad, la forma y el tamaño de las partículas viables, que van de 0.5 µm en adelante. A continuación, se realiza una espectroscopia Raman en cada partícula viable y se proporciona una firma espectral. Las firmas espectrales se correlacionan estadísticamente con una biblioteca de microorganismos conocidos. No es destructivo para su posterior análisis.

COMPañIA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIóN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
Rapid Micro Biosystems	The Grow th Direct™ System	Basado en el crecimiento; detección automatizada de la autofluorescencia celular	Análisis del agua, carga biológica, esterilidad, control ambiental	Resultados positivos en cuestión de horas	400 muestras para EM de 3 días 280 muestras para pruebas de agua o de biocarga de 5 días 20-40 muestras por día para la prueba de esterilidad	Muestras filtrables y Muestras de Monitoreo ambiental	1 UFC	Bacterias, levaduras, moho, todos los organismos que crecen en medios de agar	Las muestras se preparan de acuerdo con el método de compendio y se cargan en el sistema, que gestiona la incubación y el recuento de colonias de la muestra. La tecnología de imagen digital patentada enumera automáticamente las microcolonias en la mitad de tiempo que los métodos tradicionales de recuento visual en placa. La muestra se recoge en un filtro colocado en un casete de medio de agar con una tapa ópticamente transparente. La iluminación con luz azul excita las microcolonias para que sean auto fluorescentes (sin añadir ningún reactivo), que son enumeradas por un sistema de imágenes CCD. El sistema se filtra automáticamente a través de membranas de políéster o de celuloosa mika. Los microorganismos retenidos en la membrana se elucúan directamente con una tinción de viabilidad (o una tinción específica para cada especie) o se cultivan si es necesario. El sistema de imagen de alta resolución es capaz de monitorizar la evolución de la fluorescencia emitida por cada microorganismo o microcolonia a lo largo del tiempo. Para ello, se toman imágenes de las muestras antes, durante y después del proceso de tinción. De este modo, las partículas inertes y autofluorescentes se diferencian de los microorganismos viables gracias a la comparación de imágenes y al análisis de la emisión de fluorescencia a lo largo del tiempo.
Redberry	Red One	Tinción de viabilidad y citometría en fase sólida	Biocarga de la materia prima, muestras en proceso y producto terminado, análisis del agua	10 minutos (10 UFC); 24 h (1 UFC)	50 por día	10 UFC en 10 minutos; 1 UFC después del crecimiento	Muestras filtrables de 1 a 100 ml	Bacterias, levaduras hongos.	El Endosafe@ nexgen-PTS™ es un espectrofotómetro portátil rápido y de uso inmediato que utiliza cartuchos desechables con licencia de la FDA para realizar pruebas de endotoxinas en tiempo real. Utilizando pruebas que cumplen con la USP/BET, el nexgen-PTS™ utiliza la metodología cromogénica cinética LAL compendiada que mide una intensidad de color que está directamente relacionada con la concentración de endotoxinas en una muestra. Cada cartucho contiene cantidades precisas de reactivo LAL (95% meros LAL que los métodos tradicionales), sustrato cromogénico y endotoxina
Charles River Laboratories	Endosafe@ nexgen-PTS™	Ensayo LAL	Detección de endotoxina en productos terminados y en agua.	15 min.	4 por h	25ul	0.005-10 EU/mL	Endotoxina	El sistema Endosafe@ nexgen-MCS™ se compone de cinco espectrofotómetros individuales integrados en una unidad con ethernet que se conecta a un ordenador de sobremesa. El MCS utiliza la metodología cromogénica cinética LAL, que mide la intensidad del color directamente relacionada con la concentración de endotoxinas en una muestra. Los cartuchos desechables autorizados por la FDA, que utilizan un 95% menos de LAL que los métodos tradicionales, utilizados para realizar un ensayo, contienen cantidades precisas de reactivo de LAL, sustrato cromogénico y endotoxina estándar de control (CSE). Pipetee 25 µL de una muestra en cada uno de los cuatro pozos de un cartucho. El lector extrae y mezcla la muestra con los reactivos. Tras la mezcla, se mide la densidad óptica de los pozillos y se analiza con respecto a una curva estándar archivada internamente.
Charles River Laboratories	Endosafe@ nexgen-MCS™	Ensayo LAL	Detección de endotoxina en productos terminados y en agua.	15 min.	20 por h	25ul	0.005-10 EU/mL	Endotoxina	

COMPañIA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACION	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMANO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERIA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
Charles River Laboratories	Endosafe® Nexus™	Ensayo LAL	Detección de endotoxina en productos terminados y en agua.	15 min.	48-60 muestras por corrida	25ul	0.005-10 EU/mL	Erdotoxina	El Endosafe® Nexus™ es un sistema robótico totalmente automatizado que utiliza la metodología cromogénica cinética LAL compendiada que mide la intensidad del color directamente relacionada con la concentración de endotoxinas en una muestra. Diseñado para pruebas de agua de gran volumen o muestras que requieren diluciones, el sistema utiliza cartuchos desechables con licencia de la FDA con cantidades precisas de reactivo LAL (95% menos que los métodos tradicionales), sustrato cromogénico y endotoxina estándar de control (CSE). Pipetea 25 µL de una muestra en cada uno de los cuatro depósitos de muestras de un cartucho. El lector extrae y mezcla la muestra con los reactivos. Tras la mezcla, se mide la densidad óptica de los pocillos y se analiza con respecto a una curva estándar archivada internamente.
Milipore	Miliflex Rapid	Basado en el crecimiento; bioluminiscencia ATP	Biocarga de la materia prima y de las muestras en proceso, producto terminado, EM, agua, esterilidad	24-48 h	60 por día	Muestras filtrables	1 UFC después de crecimiento	Bacterias, levaduras hongos.	Utiliza un filtro de membrana para capturar células individuales. Se filtra la muestra y se coloca la membrana en un medio de agar apropiado para permitir el crecimiento de microcolonias. A continuación, las microcolonias se tratan con un reactivo liberador de ATP, seguido de la adición de luciferina y luciferasa. Los fotones de luz de cada microcolonia son detectados por un luminómetro, y se informa de un recuento de células. Se puede continuar la incubación para formar colonias más grandes para la posterior identificación microbiana.
Pall Corporation	GeneDisc® Rapid Microbiology System	qPCR	Conteo estimado de células.	De 3 a 8 horas, incluyendo la filtración de la muestra, la preparación del ácido nucleico y la PCR	96 por corrida de PCR	1-300 mL. Protocolo adaptado para muestras sólidas y no filtrables.	1 UFC después del enriquecimiento durante 6 a 24 horas. >100 UFC sin enriquecimiento	E. coli, Salmonella, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus, Candida albicans, Aspergillus brasiliensis, STEC, E. coli O157, Listeria, Legionella, Enterococcus, Cyanobacteria	Las muestras se filtran y los microorganismos recogidos en la membrana se lisan mediante una combinación de reactivos y calentamiento. El ADN se purifica y se concentra mediante una nueva filtración. El ADN y la Master Mix (polimerasa y desoxinucleótidos) se añaden a la placa GeneDisc, precargada con los cebadores y las sondas. La placa se transfiere al GeneDisc Cycler, y gira a través de cuatro zonas de temperatura durante el proceso de amplificación de la qPCR. Con cada ciclo de amplificación se genera una señal fluorescente de la sonda. El punto en el que la señal se sitúa por encima del fondo se denomina valor de umbral de ciclo (Ct). Cuanto mayor sea la copia de ADN (por ejemplo, mayores microorganismos), menos ciclos de amplificación serán necesarios para alcanzar el valor Ct (es decir, una detección más rápida). El software incorporado calcula el número de copias genómicas (por ejemplo, la cantidad de ADN, que está directamente relacionada con el número de células microbianas/CFU) presentes en la muestra inicial. La identificación es posible mediante la secuenciación del ADN de la muestra restante.
Battelle	REBS	Espectroscopia RAMAN	Identificación y enumeración.	3 min.	160 cada 8 h	Células de la colonia, medio líquido, producto /materia prima, superficies	Una célula es identificada y cuantificada	Alcaligenes, Pseudomonas, Brevundimonas, Candida, E. coli, Bacillus, Ralstonia, formas vegetativas y esporuladas.	El material de la muestra se retiene en una lámina soportada. La zona se examina en busca de partículas microscópicas mediante espectroscopia Raman y se proporciona una firma espectral para cada partícula. Las firmas espectrales se correlacionan estadísticamente con una biblioteca de microorganismos conocidos. No es necesaria la tinción de Gram. Los cultivos mixtos pueden ser identificados y enumerados. No es destructivo para su posterior análisis.

COMPañÍA	NOMBRE DEL PRODUCTO	METODO CIENTIFICO	APLICACIÓN	TIEMPO DE RESULTADO	RENDIMIENTO	TAMAÑO O TIPO DE MUESTRA	SENSIBILIDAD	LIBRERÍA DE MICROORGANISMOS	FLUJO DE TRABAJO
Particle Measuring Systems	Biolaz™ Real-Time Microbial Monitor	Fluorescencia intrínseca y dispersión Mie	Monitoreo activo de aire	Tiempo real	Monitoreo continuo	3.6 l/min	1 célula	Bacterias, levaduras hongos esporas.	El aire se introduce en la zona de detección del instrumento a través de una sonda de muestra de acero inoxidable. Cuando el aire pasa por el sistema es iluminado por un láser. Las partículas biológicas que contienen NADH o riboflavina se autofluorescen al pasar por el láser. Esas partículas biológicas fluorescentes se cuentan entonces en uno de los dos canales de tamaño. El sistema puede integrarse en una plataforma de gestión de datos de monitorización medio ambiental existente o puede utilizarse con un PC local con el software de interfaz disponible.
TSI Inc.	BioTrak™ Real-Time Viable Particle Counter	Fluorescencia intrínseca y dispersión Mie	Monitoreo activo de aire	Tiempo real	Monitoreo continuo y discontinuo	28.3 l/min	1 célula	Bacterias, levaduras hongos, esporas.	El aire se introduce en el instrumento y tanto las partículas viables como las totales se detectan, clasifican y enumeran simultáneamente mediante un diodo láser de 685 nm (para la clasificación de las partículas) y un diodo láser de 405 nm (para la detección de la viabilidad). El rango de tamaño para la detección es de 0.5 a 25 micras. La eficiencia de recuento es del 150% a 0.5 micras y del 100% para partículas > 0.75 micras (según ISO 21504 y JIS B992). El sistema puede calibrarse utilizando estándares trazables por el NIST. También se incluye un filtro de recogida de partículas integrado (filtro de gelatina) para capturar microorganismos para su posterior crecimiento e identificación.
METTLER TOLEDO Thornton	7000RMS Microbial Detection Analyzer	Fluorescencia intrínseca y dispersión Mie	Monitoreo de agua pura	2 segundos	Monitoreo continuo.	30 ml/min	1 célula	Bacterias, levaduras hongos.	El instrumento se instala en línea y el agua se introduce en el instrumento a 30ml/min. A medida que la muestra pasa por la celda de flujo, es iluminada por un diodo láser que provoca dos eventos: la dispersión Mie y la fluorescencia. La dispersión Mie permite dimensionar las partículas, mientras que la fluorescencia permite detectar los metabolitos (NADH y riboflavina) en los microorganismos. Mediante el uso de sofisticados algoritmos, el 7000RMS analiza estos dos eventos y es capaz de cuantificar la presencia de microorganismos hasta niveles de una sola célula.