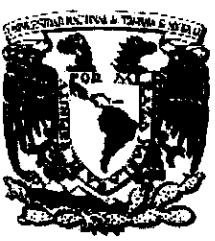


2EJ

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTONOMA DE MÉXICO



FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES
CUAUTITLAN

FARMACIA HOSPITALARIA Y COMUNITARIA

CONTROLES MICROBIOLÓGICOS
EN MEZCLAS INTRAVENOSAS

TRABAJO DE SEMINARIO

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE
QUÍMICA FARMACÉUTICA BIÓLOGA

P R E S E N T A :

YOLANDA BARRERA GARCIA

ASESOR: QFB RICARDO OROPEZA CORNEJO

CUAUTITLAN IZCALLI, EDO. DE MEX. 1999

TESIS CON
FALLA DE ORIGEN

278189



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
AVANZA DE
MEXICO

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN
UNIDAD DE LA ADMINISTRACION ESCOLAR
DEPARTAMENTO DE EXAMENES PROFESIONALES

U. N. A. M.
FACULTAD DE ESTUDIOS
SUPERIORES CUAUTITLÁN

DR. JUAN ANTONIO MONTARAZ CRESPO
DIRECTOR DE LA FES-CUAUTITLÁN
PRESENTE.

AT'N: Q. MA. DEL CARMEN GARCIA MIJARES
Jefe del Departamento de Exámenes
Profesionales de la FES-C.

Con base en el art. 51 del Reglamento de Exámenes Profesionales de la FES-Cuautitlán, nos permitimos comunicar a usted que revisamos el Trabajo de Seminario:

Farmacia Hospitalaria y Comunitaria
"Controles Microbiológicos en Mezclas Intravenosas".

que presenta la pasante: Yolanda Barrera García.
con número de cuenta: 8857387-0 para obtener el Título de:
Química Farmacéutica Bióloga.

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

ATENTAMENTE.

"POR MI RAZA HABLARA EL ESPIRITU"

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, a 24 de febrero de 1999

MODULO:	PROFESOR:	FIRMA:
I QFB Ma.	Eugenia R. Posada Galarza	
II M en F.C.	Beatriz de J. Maya Monroy	
III QFB.	Ricardo Oropeza Cornejo	

AGRADECIMIENTOS.

A DIOS.

Gracias por permitirme culminar esta meta de mi vida.

A MI MADRE

Por enseñarme que con esfuerzo, dedicación y sacrificio todo se puede lograr en la vida. Te quiero mucho.

A LALO, ROBERT Y ANGY.

Ya que sin su apoyo este trabajo no hubiera sido posible. Gracias por su paciencia.

A mi tía **CATA** y mis primas **ARACELI, YOYI** y **FABY** por su ayuda brindada en el transcurso de mi carrera, y sus palabras siempre de aliento. Gracias por todo

A G.LETY. Por tu amistad y tu apoyo brindado en los momentos difíciles .Mit gracias.

A todas las personas que de una u otra forma han contribuido con su granito de arena para la realización de este trabajo.

INDICE

	Pág
1.- INTRODUCCION.	1.
2.- OBJETIVOS.	3
3.- GENERALIDADES	4
3.1.- Mezclas intravenosas (MIV)	4
3.2.- Definición de Mezcla Intravenosa.	4
3.3.- Definición de Nutrición Parenteral.	4
4.- ESTABILIDAD DE MEZCLAS INTRAVENOSAS.	5
4.1.-Definición.	5
4.2.- Factores fisicoquímicos que influyen en la estabilidad de MIV.	5
4.3.- Reacciones más frecuentes causantes de la inestabilidad de MIV.	6
4.4.- Estabilidad Microbiológica.	6
4.4.1 Reacciones más frecuentes.	6
4.4.2.Crecimiento potencial de microorganismos.	7
4.4.3.Condiciones de almacenamiento.	7
5.- CONTROLES DE CALIDAD EN LAS MEZCLAS INTRAVENOSAS	9
5.1.- Definición de Control de Calidad.	9
5.2.- Objetivos del Control de Calidad.	9
5.2.1.- Límites de partículas aceptados.	9
5.3.- Controles de Calidad aplicados a las Mezclas Intravenosas	9
6.- CONDICIONES AMBIENTALES PARA LA PREPARACIÓN DE MEZCLAS INTRAVENOSAS.	11
6.1.- Central de Mezclas Intravenosas (CMIV).	11
6.2.- Características de la central de mezclas intravenosas	12
6.3.- Definición de Campana de Flujo Laminar (CFL).	13
6.3.1.- Definición de Flujo Laminar.	13
6.3.2.- Partes de la Campana de Flujo Laminar.	13
6.3.3.- Tipos de Campanas de Flujo Laminar.	15

6.4.- Técnicas asépticas para la preparación de Mezclas Intravenosas en la campana de flujo laminar.	15
6.4.1.- Procedimiento General.	15
6.4.2.- Reconstitución de liofilizados.	17
6.4.3.- Procedimiento para obtener el contenido de un vial.	17
6.4.4.- Procedimiento para obtener el contenido de una ampollita.	18

7.- CONTROLES DE CALIDAD MICROBIOLÓGICOS. 20

7.1.- Control Bacteriológico en Mezclas Intravenosas.	20
7.1.1.- Introducción.	20
7.1.2.- Criterios a seguir para un control bacteriológico de MIV.	21
7.1.3.- Contaminantes.	21
7.1.3.- a) Definición.	21
7.1.3.- b) Clasificación de acuerdo a su naturaleza.	21
7.1.3.- c) Clasificación de acuerdo a su origen en las MIV.	21
7.1.4.- CONTAMINACION BACTERIOLOGICA.	22
7.1.4.1.-Clasificación.	22
7.1.5.- Agentes contaminantes más frecuentes.	24
7.2.- Procedimientos para el control microbiológico de MIV	24
7.3.- Monitoreo ambiental.	25
7.3.1.- Técnicas para la evaluación del Control Ambiental.	26
7.3.1.1.- Filtración.	26
7.3.1.2.- Exposición de cajas petri.	27
7.3.2.- Evaluación de los filtros HEPA.	26
7.3.2.1.- Integridad de los filtros HEPA.	26
7.3.2.2.- Contador de partículas.CLIMET.	28
7.3.2.3.- Velocidad de flujo.	28
7.3.3.- Evaluación de sanitizantes.	28
7.4.- Muestreo del personal.	29
7.4.1.- Material.	29
7.4.2.- Metodología.	29
7.5.- Catéteres y canulas.	30
7.5.1.- Procedimiento.	31
7.5.2.- Metodología	31
7.5.3.- Métodos alternos.	31
7.5.3.1.- Método de centrifugación.	31
7.5.3.2.- Diagnóstico in vitro.	31
7.6.- Prueba de esterilidad.	31
7.6.1.- Por membrana.	32
7.6.2.- Por siembra directa.	32
7.7.- Determinación de mesofílicos aerobios.	33
7.7.1.- Método de vertido en placa.	33
7.8.- Llenado simulado.	33
7.9.- Kit Addi-Chek II para control de calidad.	34
7.10.- Control de Pirógenos.	35
7.10.1.- Definición.	35
7.10.2.- Clasificación	35
7.10.3.- Métodos para detectar pirógenos.	36
7.10.4.- Desventajas del método Lisado de Amebocitos de Limulus.	36
7.10.5.- Mecanismo de aglutinación	36

7.11.- Prueba de pirógenos.(LAL)	37
7.11.1.- Material.	37
7.11.2.- Metodología.	38
7.11.3.- Lectura de resultados.	38
7.12.-Formato para el seguimiento del Control Microbiológico.	40
8.- ANÁLISIS.	42
9.- CONCLUSIONES.	44
10.- BIBLIOGRAFIA.	45
GLOSARIO	47
ANEXO	49

LISTA DE FIGURAS.

	Pág
Figura 1 Diagrama del procedimiento de dispensación de Mezclas Intravenosas y Controles de Calidad.	8
Figura 2 Campana de Flujo Laminar Horizontal.	14
Figura 3 Disposición del material dentro de la Campana de Flujo Lamina	16
Figura 4 Técnicas para la extracción de líquidos en ampollitas	19
Figura 5 Fuentes primarias potencialmente responsables de la contaminación de MIV durante su preparación y administración	23
Figura 6 Diagrama para el seguimiento del control microbiológico	25
Figura 7 Reacción de Aglutinación	37

LISTA DE TABLAS.

Tabla 1 Ensayos de muestras y testigos.	38
Tabla 2 Control Microbiológico de Mezclas Intravenosas	40
Tabla 3 Control del área de trabajo.	40
Tabla 4 Control del personal.	40
Tabla 5 Control de cánulas y catéteres	41

1.- INTRODUCCIÓN

En la práctica hospitalaria, un gran número de medicamentos inyectables son diluidos con soluciones intravenosas de gran volumen para proveer una terapia continua y prolongada. Algunas veces los medicamentos deben aplicarse mediante una solución intravenosa; con dos ó más medicamentos (aditivos), los cuales se administran juntos en una misma solución; ocasionando reacciones indeseables físicas o químicas entre un medicamento y una solución u otro medicamento, lo que puede llevar a la pérdida de su estabilidad o bien suele ocurrir la contaminación con material extraño durante la preparación (contaminación microbiana) produciendo circunstancias adversas y afectando el pronóstico esperado en la terapia del paciente.

Actualmente la preparación de mezclas intravenosas es rutinaria, y desafortunadamente se cuenta con pocos datos que indiquen al médico y/o farmacéutico, las condiciones de estabilidad de dichas mezclas, tomando en consideración no solo los periodos de administración, sino también el tiempo y las condiciones de almacenamiento durante y después de su preparación, y de esta manera poder asegurar y garantizar la calidad farmacéutica y terapéutica de las mezclas intravenosas.⁽¹⁾

Dentro de las pruebas de control de calidad que un laboratorio farmacéutico lleva a cabo en los productos que elabora tienen gran importancia las pruebas biológicas y microbiológicas, debido a que algunas características farmacológicas, toxicológicas y farmacotécnicas de los medicamentos no pueden ser evaluadas por procedimientos físicos o químicos.

Las pruebas biológicas o microbiológicas son muy diversas, dependiendo del origen de la materia prima, forma farmacéutica o características que se desean evaluar, exigiendo cierto grado de especialización y competencia. Se aplican principalmente a materiales de origen animal, vegetal y microbiológico, así como a formas farmacéuticas parenterales.

Algunos ejemplos de determinaciones en productos farmacéuticos son: la contaminación cualitativa y cuantitativa de microorganismos, la actividad inhibitoria del desarrollo bacteriano de algunos componentes de la fórmula y la esterilidad de las soluciones parenterales.⁽²⁾

Al igual que una terapia enteral, una terapia intravenosa requiere de un riguroso control ya que es necesario revisar que no se presenten incompatibilidades intravenosas, cambios fisicoquímicos, contaminación por partículas; además de evitar las contaminaciones microbiológicas que pudieran alterar la estabilidad de la mezcla poniendo en riesgo el éxito de la terapia y la salud del paciente, por ello es importante que entre todo el equipo asistencial (médicos, enfermeras y farmacéuticos) implicados en la terapia intravenosa exista una estrecha comunicación de tal manera que puedan emitir informes y normas que inciden sobre el control de calidad a que deben ser sometidas las MIV durante su preparación y administración al paciente.

2.- OBJETIVOS

- Establecer los procedimientos para el control de calidad microbiológico en las mezclas intravenosas que se realizan en un hospital.
- Indicar las diferentes técnicas asépticas que se pueden emplear en el muestreo y análisis microbiológico en la preparación de las MIV.
- Establecer un programa de monitoreo microbiológico del área, del personal, equipo , medio ambiente y producto terminado.

3.- GENERALIDADES

3.1.- Mezclas Intravenosas.

La terapia parenteral consiste en la utilización de soluciones intravenosas. De esta forma los líquidos intravenosos sirven para reponer líquidos, restablecer el equilibrio electrolítico y aportar nutrición suplementaria, además, también son utilizados como vehículos para otras sustancias medicamentosas y en nutrición parenteral total. El uso de líquidos IV para estos fines requiere la composición de mezclas intravenosas específicas conocidas como prescripciones parenterales las cuales cubren los requerimientos nutricionales que necesita cada paciente en particular, dichas mezclas se formulan para proporcionar aminoácidos, electrólitos, carbohidratos, oligometales, vitaminas, grasas y algunos tratamientos con fármacos.

3.2.- Definición de Mezcla Intravenosa (MIV).

Es toda preparación extemporánea para administración en perfusión IV formada a partir de la combinación de uno o más medicamentos intravenosos (aditivos), usando técnicas asépticas y un ambiente apropiado que permitan garantizar la eficacia terapéutica y seguridad biológica.

Aditivo. Son cada uno de los medicamentos intravenosos que constituyen una MIV, los cuales están envasados en ampollas o en viales o son sólidos estériles; estos últimos se reconstituyen con un diluyente apropiado antes de agregarlo a la MIV.

3.3.- Definición de Nutrición Parenteral (NP).

Es la administración por vía intravenosa de todos los elementos necesarios en cantidad y calidad suficientes para mantener las funciones metabólicas básicas, incrementando los depósitos de materiales de reserva en el organismo y ayudando a la reparación y el crecimiento tisular.

Las MIV al ser preparaciones extemporáneas se consideran dosis unitarias, porque son prescripciones parenterales específicas para cubrir las necesidades clínicas de cada paciente en particular listas para usarse. (3)

4.- ESTABILIDAD DE MEZCLAS INTRAVENOSAS.

4.1.- Definición.

Una mezcla intravenosa se considera estable si durante el tiempo que transcurre desde su preparación hasta completar su administración al paciente, retiene más del 90% de su actividad inicial conservando íntegra su actividad terapéutica, y considerando que los productos de degradación no sean tóxicos.

Aplicando esta definición para un producto farmacéutico, se puede definir como la capacidad de una fórmula en particular, en un sistema específico de envase y cierre, para mantenerse dentro de sus especificaciones físicas, químicas, microbiológicas, terapéuticas y toxicológicas. (4)

4.2.-Factores fisico-químicos que influyen en la estabilidad de las mezclas intravenosas.

Se consideran dos grupos de factores, y son:

1) Características del aditivo, vehículo y envase en cuanto a:

- a) Naturaleza y concentración del soluto en la disolución.
- b) pH y capacidad tampón del vehículo.
- c) Naturaleza del envase(vidrio o plástico)
- d) Condiciones del envasado.

2) Conservación de la MIV, en cuanto a:

- a) Tiempo
- b) Temperatura (ambiente, refrigeración, congelación).
- c) Exposición a la luz.

4.3.- Reacciones más frecuentes causantes de la inestabilidad de las mezclas intravenosas.

- a) Oxido-reducción
- b) Hidrólisis.
- c) Racemización
- d) Fotólisis.

Las más frecuentes son las de hidrólisis, por cuanto el medicamento se encuentra en disolución acuosa y las reacciones de oxidación y reducción.⁽³⁾

4.4.-ESTABILIDAD MICROBIOLÓGICA.

El mantenimiento de la estabilidad es muy importante en el caso de medicamentos intravenosos principalmente por su vía de administración. La presencia de contaminación microbiana en líquidos estériles no se determina visualmente, pero el cambio de color, cambio de pH, aparición de turbidez, material particulado ó formación de gas es indicativo de una posible contaminación microbiológica.⁽³⁾

La estabilidad de las mezclas extemporáneas es desconocida pues son alteradas las condiciones iniciales de esterilidad de cada uno de sus aditivos. De este modo la inestabilidad de una MIV se presenta cuando existen interacciones entre los aditivos, así mismo influyen las técnicas e instrumentos utilizados para su preparación y administración.

Cada vez que se realice un estudio de estabilidad debe tenerse en cuenta los problemas que crean los microorganismos, más aún en un medio acuoso rico en nutrientes como lo son las mezclas en particular las nutriciones parenterales.

4.4.1.- Reacciones más frecuentes.

Los microorganismos pueden alterar el pH del medio líquido produciendo opacidad ó turbidez y hasta floculación y por sus sistemas enzimáticos pueden producir hidrólisis, oxidaciones y reducciones.

La esterilización y el agregado de conservadores para eliminar o reducir el número de microorganismos también puede constituirse en causa de inestabilidad.

Son dos los problemas que ocasionan los microorganismos: 1) si son patógenos de hecho constituyen un riesgo para el individuo.2) si el grado de contaminación del preparado farmacéutico supera ciertos límites, se producen efectos que afectan su estabilidad, el producto puede ser destruido total o parcialmente así como deteriorarse el producto por reacciones enzimáticas, de hidrólisis, fermentación, coloración y también por desarrollo inaceptables de micelios fúngicos.^(5,6)

4.4.2.- Crecimiento potencial de microorganismos.

Por su composición, rica en nutrientes, las soluciones y mezclas de NPT pueden ser un medio de crecimiento favorable para los microorganismos; contaminándose desde su preparación y por el manejo de dichas mezclas por el personal de enfermería.

La rápida proliferación de bacterias y hongos es mayor en soluciones de dextrosa y proteínas hidrolizadas, la multiplicación y supervivencia de los microorganismos es significativamente apreciable.

La presencia de bacterias se ve reducida en soluciones de dextrosa y aminoácidos cristalinos después de 24 hrs, a excepción de *Candida albicans*. La disminución del crecimiento bacteriano se debe a la falta de proteínas libres, las cuales proporcionan péptidos necesarios para el crecimiento de los microorganismos . Si bien la hipertonicidad y acidez de nutriciones parenterales comercialmente disponibles no presentan condiciones ideales para el crecimiento de microorganismos; algunos patógenos pueden proliferar muy rápidamente a temperatura ambiente.^(7,15)

4.4.3.-Condiciones de Almacenamiento.

LA NATIONAL COORDINATING COMMITTEE ON LARGE VOLUME PARENTERAL (NCCLVP) recomienda que la mezcla intravenosa sea refrigerada inmediatamente si no es administrada después de su preparación. Se ha observado una disminución en el crecimiento de *C. albicans* cuando la solución es refrigerada a 4 °C.⁽⁷⁾

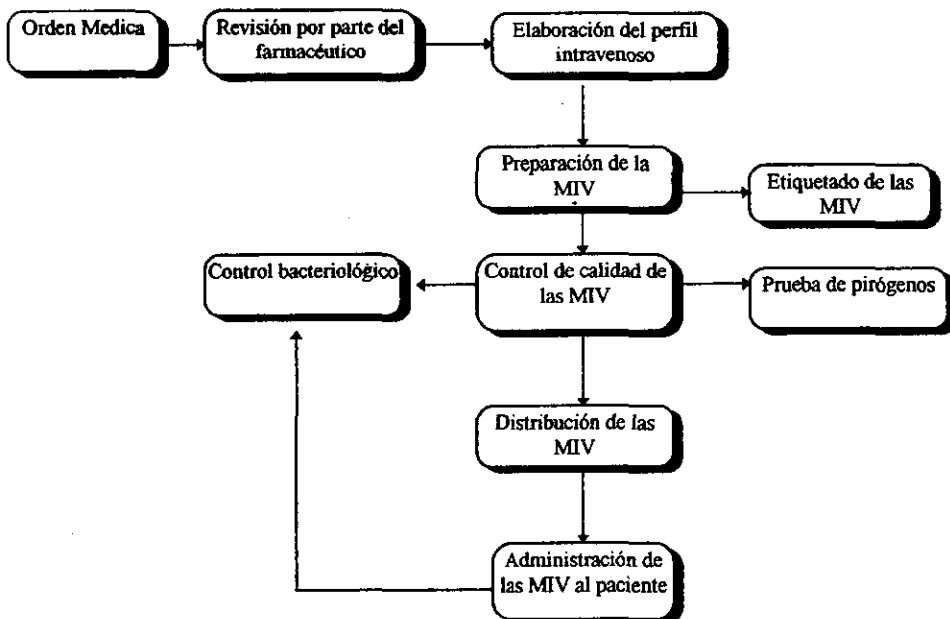
5.- CONTROLES DE CALIDAD EN LAS MIV.

El control de calidad es uno de los elementos básicos en la práctica farmacéutica diaria siendo , los controles relacionados con los medicamentos inyectables IV. especialmente importantes, ya que esta forma de dosificación se aproxima al 45.2% del total de los medicamentos utilizados en un hospital.

5.1.-Definición de Control de Calidad.

Serie de procesos que garantizan la aptitud de un producto para un fin propuesto. El control de calidad debe ser básico en la práctica diaria farmacéutica y debe implementarse durante todo el proceso que conlleva la preparación ,dispensación, distribución y administración de las MIV. En el diagrama de flujo de la figura 1 se esquematiza la dispensación de MIV por el sistema de dosis unitaria y los controles de calidad aplicados.

Figura no.1 Diagrama del procedimiento de dispensación de MIV. y controles de calidad.



5.2.- Objetivos del Control de Calidad.

- - La mezcla IV debe ser terapéuticamente y farmacéuticamente apropiadas para el paciente.
- - Las mezclas IV deben estar libres de pirógenos y contaminantes microbianos.
- - No contener partículas de tamaño mayor de lo aceptado ó que estas no superen los niveles máximos aceptados
- - Contener los aditivos en las cantidades prescritas.
- - Las mezclas deben de estar correctamente etiquetadas.
- - Las mezclas deben de estar debidamente conservadas distribuidas y administradas.⁽³⁾

5.2.1.- Límites de partículas aceptados.

La solución satisface los requisitos de prueba si contiene NO más de 50 partículas/ml. de un tamaño igual o mayor de 10 micras y no más de 5 partículas/ml. de un tamaño igual o mayor de 25 micras.^(3,5)

5.3.- Controles de Calidad aplicados a las MIV.

El farmacéutico revisa la MIV y puede efectuar tres tipos de exámenes, físicos, químicos y microbiológicos.

a) Físico: tiene como finalidad detectar la presencia de incompatibilidades de tipo físico como:

- Cambio de color.
- Turbidez
- Pérdida de vacío.
- Integridad física del contenedor.
- Partículas visibles.
- Precipitados.
- Desprendimiento de gases.
- Cremosidad

- Floculación.
- Coalescencia.
- Ruptura de la emulsión grasa.

b) Químicos: tiene como finalidad detectar la presencia de incompatibilidades químicas, que se caracterizan por una degradación irreversible. Estos pueden ser visibles o no .

- Control de pH.
- Osmolaridad.
- Identidad
- Concentración.

c) Controles microbiológicos: tiene como finalidad detectar contaminación por bacterias, hongos y levaduras.

- Control de pirógenos.
- Control bacteriológico
- Control de hongos y levaduras.

6.- CONDICIONES AMBIENTALES PARA LA PREPARACION DE MEZCLAS INTRAVENOSAS.

Para mantener las características de los productos estériles, es decir, esterilidad y ausencia de partículas y de pirógenos es imprescindible que se les manipule en un ambiente apropiado utilizando técnicas asépticas.

Se ha demostrado que alrededor del 45.2% de los fármacos utilizados en los centros hospitalarios son medicamentos de administración intravenosa. Por tal motivo exigen el máximo cuidado y atención, ya que ingresan al organismo directamente a la sangre sin una barrera biológica previa. De ahí la importancia de cuidar su preparación que aún en la actualidad la siguen realizando las enfermeras junto a la cama del paciente o en la unidad de enfermería, sin los cuidados estrictos de ASEPSIA. Esta modalidad de trabajo acarrea serios problemas de infección y aumenta la posibilidad de errores en la medicación que se administra.

Por esta razón es necesario establecer o contar con una central de mezclas intravenosas dentro del hospital, cuyo objetivo sea el garantizar la seguridad y eficacia de la terapéutica intravenosa administrada a los pacientes hospitalizados.

6.1.- Central de Mezclas Intravenosas.

La central de mezclas intravenosas dentro del hospital es el lugar donde se realiza la recepción de la prescripción, la elaboración, acondicionamiento y distribución de las mezclas intravenosas(MIV). Esta área deberá de contar con una superficie mínima que incluya:

- Almacén para depósito de medicamentos y materiales y,
- Laboratorio para la elaboración y acondicionamiento de las MIV.

6.2.- Características de la Central de Mezclas Intravenosas

Esta área deberá cumplir con requisitos semejantes a las normas que rigen las áreas estériles.

1. Pisos y paredes lisas, no rugosas.

- Pintadas con pintura epóxica lavable y con bordes redondeados.
- Instalación eléctrica oculta.
- Presión positiva del aire.
- Ventanas clausuradas.
- Si existe aire acondicionado, deberá tener anulada la toma de aire del exterior, o en caso de ser centralizado debe reciclarse el aire a través de filtros HEPA.
- Estandarización de los métodos de preparación.
- Minimizar los riesgos de contaminación.
- Tener un sistema de etiquetado homogéneo.
- CAMPANA DE FLUJO LAMINAR.(CFL).

Debe contener el siguiente equipo:

- Refrigerador.
- Contenedor de punzo-cortantes.
- Teléfono.
- Máquinas de escribir, computadora.
- Anaqueles, mesas de trabajo.

Además el siguiente material:

- Stock de soluciones de gran volumen y medicamentos (dextrosas, fisiológicas, aminoácidos, lípidos, multivitamínicos , electrólitos, etc.
- Jeringas, equipos para venoclisis y bolsas EVA.(3,8)

6.3.- DEFINICION DE CAMPANA DE FLUJO LAMINAR.

Es un dispositivo que ayuda a mantener una área limpia ó estéril. Este equipo impide, mediante el procedimiento de proveer una corriente constante de aire microfiltrado, que las partículas de polvo entren al área de trabajo, reduciendo así el riesgo de contaminación por el aire. Así mismo previene la contaminación cruzada al evitar que las partículas originadas en el área de trabajo se muevan en forma turbulenta durante el proceso.

6.3.1.-Definición de Flujo Laminar.

Se entiende un flujo de aire, en el cual todas las redes de un determinado lugar "recinto" se mueven a velocidad uniforme, siguiendo las líneas paralelas del flujo, con un mínimo de turbulencia.

Las campanas de flujo laminar más frecuentemente utilizadas, para estos fines son las de clase 100 de acuerdo con la norma USA, y puede llegar a admitir un empolvamiento máximo de (3.5 a 4 partículas /l.aire) mayores de 0.5 micrometros.⁽³⁾

6.3.2.- Partes de una CFL.

La CFL está compuesta por las siguientes. partes :

- Filtros absolutos HEPA con una eficiencia de 99.97 % y poder de retención de partículas de hasta 0.3 micras.
- Gabinete de trabajo compuesto por una mesa de soporte, mesa de trabajo y paredes laterales.
- Un prefiltro el cual deberá ser cambiado con una periodicidad no mayor a seis meses.(Figura 2)⁽³⁾

La campana de flujo laminar debe estar colocada en una zona donde este libre de corrientes de aire, para que estas no interfieran con el flujo en el área de trabajo y no se formen turbulencias en el mismo.

FIGURA 2. CAMPANA DE FLUJO LAMINAR HORIZONTAL

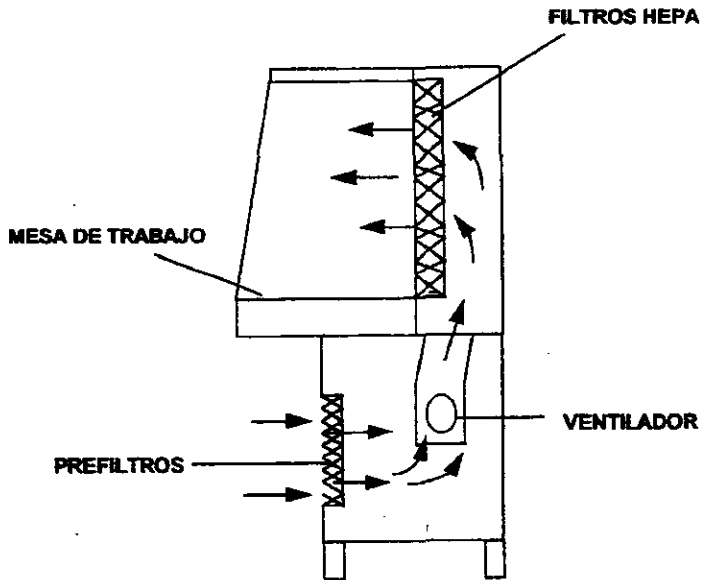


FIGURA 2. Campana de Flujo Laminar Horizontal (CFL-H).
Tiene el propósito de mantener un flujo constante de aire limpio en el área de trabajo.⁽¹⁰⁾

6.3.3.-TIPOS DE CAMPANA DE FLUJO LAMINAR.

- Campana de flujo laminar horizontal.
- Campana de flujo laminar vertical.
- Gabinete de seguridad biológica (cuenta con una toma de extracción y se utiliza para la preparación de citostáticos).

6.4.- Técnicas asépticas para la Preparación de Mezclas Intravenosas en la Campana de Flujo Laminar.

6.4.1.- Procedimiento general.

- a) Poner en funcionamiento la campana de flujo laminar de 15 a 20 minutos antes de iniciar la preparación de las MIV.
- b) Vestirse adecuadamente con la ropa protectora tomando en cuenta las recomendaciones siguientes:
 - 1.- Bata.- Debe ser larga con mangas largas y puños ajustados, abrochándola perfectamente.
 - 2.- Cofia.- Debe cubrir perfectamente el cabello y las orejas.
 - 3.- Cubrebocas.- Debe cubrir perfectamente la nariz y la boca.
- c) Los frascos, ampollitas, viales y otros objetos que se utilicen en la preparación y que se introduzcan a la CFL, deberán previamente ser lavados con agua y jabón, antiséptico y posteriormente ser limpiados con una gasa humedecida en alcohol al 70 % .
- d) Lavarse las manos y las uñas con un cepillo y jabón antiséptico, enjuagar con agua, secarse las manos y por último rociar con una solución de alcohol al 70 %
- e) Limpiar la CFL, de la siguiente manera: con una gasa impregnada en alcohol al 70 %, limpiar las paredes laterales (De la parte superior hacia la parte inferior) y posteriormente la mesa de trabajo, con movimientos de adentro hacia fuera, siguiendo el flujo de aire y sin tocar la misma zona dos veces.
- f) Colocar los materiales dentro del área de trabajo, con un mínimo de 5 a 7 cm.de distancia entre cada uno, para evitar que obstruya el flujo de aire.(Figura 3)
- g) Evitar introducir a la CFL, cualquier tipo de objeto que pueda interrumpir el flujo aéreo, como son: envolturas, lápices, plumas, etiquetas o cualquier objeto de cartón.
- h) Las manipulaciones dentro de la CFL, deben realizarse en forma normal, evitando movimientos rápidos y bruscos, excesivos e inusuales que generen turbulencia y contaminación.
- i) En todas las manipulaciones de las jeringas, nunca se deberá tocar el émbolo para evitar su contaminación.

FIGURA 3. Disposición de los materiales dentro de la Campana de Flujo Laminar Horizontal.

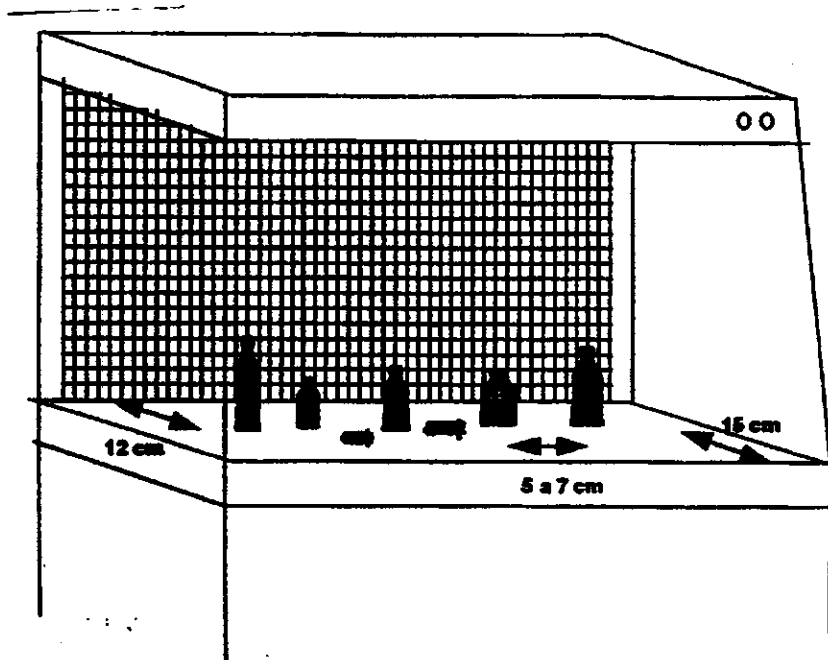


FIGURA 3. El área de trabajo dentro de la (CFL-H) es aproximadamente de 12 a 15 cm. De distancia del borde inferior hacia afuera y del borde exterior hacia adentro, y de 10 a 12 cm. de los bordes laterales hacia el centro.⁽¹⁰⁾

6.4.2.-Si la presentación del medicamento es un polvo liofilizado, se reconstituye de la siguiente manera:

- Retirar la tapa protectora del vial y desinfectar el tapón con una gasa impregnada en alcohol al 70 %, dejándolo evaporar.
- Tomar el volumen necesario del diluyente e inyectarlo en el vial,
- Introduciendo la aguja con el bicel hacia arriba, en un ángulo de aproximadamente 45°, con respecto al tapón. Una vez que la aguja ha penetrado al tapón, colocar la jeringa en posición vertical y completar la penetración. La aguja debe introducirse dentro del vial aproximadamente las 2/3 partes de su tamaño.
- Retirar la jeringa cuidadosamente para evitar salpicar los filtros HEPA.
- Agitar el vial perfectamente, asegurándose que se ha reconstituido adecuadamente, es decir, sin grumos.

6.4.3.- Si la presentación del medicamento en el vial es líquido, se procede de la siguiente manera:

- Limpiar el tapón con alcohol al 70 %.
- Para facilitar el proceso de sacar el líquido del vial, inyectar dentro del vial una pequeña cantidad de aire, $\frac{3}{4}$ partes aproximadamente del volumen a extraer.
- Una vez que la jeringa está dentro del vial, invertirlo de tal forma que el vial esté ahora sobre la jeringa.
- Sacar el volumen del líquido requerido, asegurándose de extraer el volumen necesario del medicamento antes de sacar la aguja del vial, para evitar picarlo dos veces.
- Las burbujas de aire que se encuentran dentro de la jeringa se pueden remover, colocando el tapón protector de la aguja, jalando el émbolo de la jeringa hacia abajo y dándole pequeños golpes con el dedo índice a la jeringa, el aire se desplazará hacia arriba, ajustando el volumen, subiendo nuevamente el émbolo.

6.4.4.- Si la presentación del medicamento es una ampolleta, se procede de la siguiente manera:

- 1) Antes de abrir una ampolleta, limpiar el cuello de ésta, con un gasa impregnada de alcohol al 70 %.
- 2) Abrir la ampolleta sujetándola (lejos de la cara) y ejerciendo sobre el cuello presión, en dirección contraria al operador.
- 3) Introducir la aguja (2/3 partes aproximadamente;) dentro de la ampolleta, con el bisel hacia arriba y extraer el líquido evitando tocar, la parte externa del cuello de la ampolleta con la aguja.(Figura 4).⁽¹⁰⁾

j). Inyectar el o los aditivos a su contenedor final (Bolsa de PVC, bolsa EVA o frasco) por el puerto de inyección, limpiando el tapón de goma previamente con una gasa impregnada de alcohol al 70 % antes y después de cada operación.

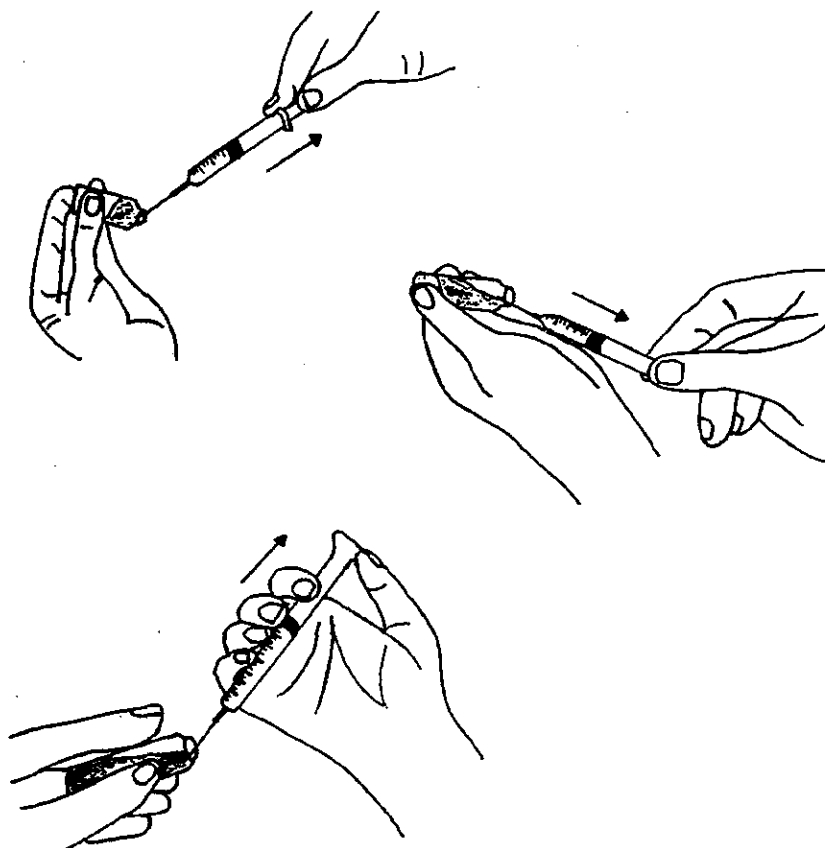
k) Homogeneizar la mezcla intravenosa, mediante las inversiones suaves del contenedor.

l) Etiquetar la mezcla intravenosa (fuera de la CFL).

m) Al finalizar el trabajo dentro de la campana, retirar todos los materiales utilizados en la preparación, desechando cada objeto en su contenedor correspondiente (Las agujas desecharlas en el contenedor de punzocortantes)

n) Limpiar perfectamente la CFL, como se indicó anteriormente.^(3,8,9)

FIGURA 4. Técnicas para la extracción de líquidos en ampolletas.



7.- CONTROLES DE CALIDAD MICROBIOLÓGICOS.

7.1.- CONTROL BACTERIOLÓGICO EN MIV.

7.1.1.- INTRODUCCION.

El proceso de preparación de las MIV debe ser realizado con técnicas asépticas y en cámara de flujo laminar, ya que ningún microorganismo, a pesar de la falta de virulencia atribuida a ellos puede ser ignorado o considerado insignificante cuando se encuentra como contaminante en soluciones medicamentosas o MIV , bien sea su procedencia endógena o exógena.

La presencia de una gran variedad de Levaduras, Hongos y Bacterias en productos farmacéuticos pueden ocasionar una serie de problemas como: la descomposición del principio activo, ruptura de la emulsión, cambios en el color, olor, consistencia y lo más importante daños al paciente.

En base a algunos antecedentes cronológicos registrados a la luz de experimentos realizados en los años 60, se puso de manifiesto que enfermos hospitalizados se habían infectado con agentes terapéuticos contaminados durante su fabricación y/o manejo. En 1965 en Suecia sorprenden las altas cuentas bacterianas encontradas en tabletas, de las cuales se aislaron principalmente *Bacillus*, *S aureus* coagulasa negativa, especies de *Alcaligenes*, y bacilos coliformes, y en casos aislados se encontró *S aureus* coagulasa positiva.

En ese mismo año en Inglaterra se reportaron casos en pacientes con infecciones oculares provocadas por *Ps. aeruginosa* localizada en una solución salina. Otro grupo de pacientes sufrió infecciones del tracto respiratorio con el mismo microorganismo aislado de una solución de clorhexidina. Un tercer grupo sufrió infecciones pulmonares causadas por *Ps. aeruginosa* encontrada en un ungüento de lidocaína utilizada en catéteres endotraqueales.

Ante el riesgo de septicemias nosocomiales por las causas citadas mismo que puede incrementarse en hospitales con servicios centralizados de preparación de MIV y nutrición parenteral y en los que cualquier alteración en el proceso de preparación o accidente podría convertirlos en fuentes inagotables de septicemia nosocomial, se recomienda que mediante el seguimiento de un control de calidad adecuado y estricto en la preparación y administración de las mezclas estos accidentes no ocurran.^[2,3]

7.1.2.- CRITERIOS EN LOS QUE SE DEBE REALIZAR UN CONTROL BACTERIOLOGICO DE MEZCLAS IV.

- 1.- Al instaurar el servicio centralizado de preparación de MIV.
- 2.- Ante cualquier variación en el proceso de elaboración.
- 3.- Cuando aumenta la incidencia de infecciones nosocomiales.
- 4.- Cuando aumenta la incidencia de procesos febriles en enfermos sometidos a terapias intravenosas.
- 5.- De modo sistemático : muestreo de las MIV: quincenal.

7.1.3.- CONTAMINANTES.

7.1.3 a) Definición

Toda especie química presente en cantidad superior a la concentración fijada, así como todo cuerpo extraño o la presencia de hongos, bacterias, pirogénos, entre otros; en las soluciones intravenosas de gran volumen, aditivos o MIV debe ser considerado como contaminante.

7.1.3 b) Clasificación de los contaminantes de acuerdo a su naturaleza.

- Físicos (partículas materiales)
- Químicos (impurezas disueltas)
- Biológicos (bacterias , hongos y pirógenos).

7.1.3.c) Clasificación de los contaminantes de acuerdo a su origen en las MIV.

- **Intrínsecos:** son aquellos presentes antes de realizar la mezcla. Por estar presentes en el producto IV y equipos utilizados para la preparación y administración del mismo puede afectar a muchos pacientes al ser distribuidos en varios hospitales.

- **Extrínsecos:** suelen ser introducidos durante su preparación, almacenamiento y/o durante la administración de la MIV. Pueden ser causa de patologías esporádicas y por su propia naturaleza puede afectar solamente a los pacientes de un mismo centro hospitalario.

7.1.4 CONTAMINACIÓN BACTERIOLOGICA.

7.1.4 a) Clasificación.

.- Extrínseca: clínicamente se sospecha cuando:

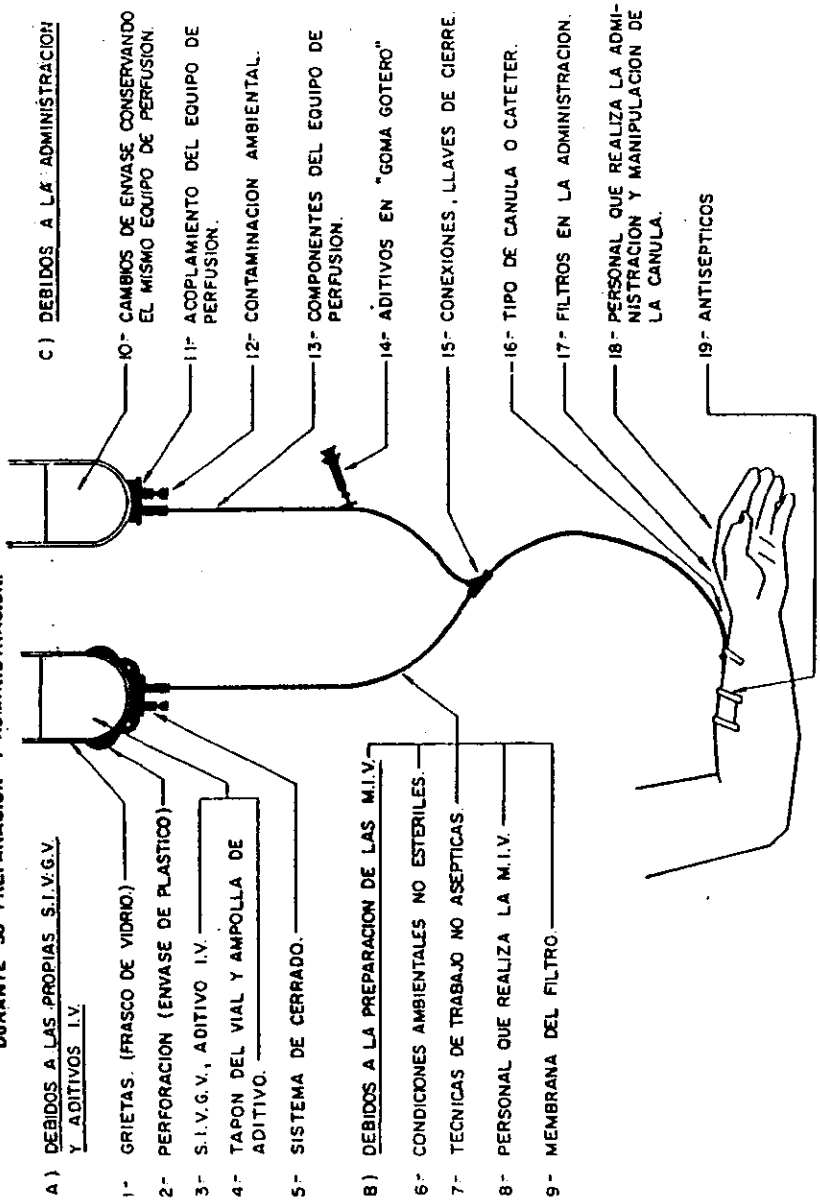
- 1) Signos y síntomas de la sepsis aparecen inmediatamente después de iniciar la infusión IV.
- 2) La terapia con antibióticos falla mientras continua la infusión
- 3) El paciente mejora rápidamente cuando la terapia IV se suspende
- 4) Se aísla idéntico microorganismo en la SIVGV que se le está perfundiendo y en la sangre del paciente.

- Intrínseca: se caracteriza por:

- 1) Aumentar la incidencia de bacteremias primarias;
- 2) No afecta la incidencia de enfermedad en puntos distintos de donde se produce;
- 3) Son escasos los microorganismos responsables y generalmente no son patógenos.

Las fuentes primarias potencialmente responsables de los contaminantes se describen agrupadas de acuerdo con su posible procedencia en el siguiente esquema de un sistema de perfusión intravenoso doble. Ver la figura 5.

FIGURA 5. FUENTES PRIMARIAS POTENCIALMENTE RESPONSABLES DE LA CONTAMINACION DE LAS MEZCLAS I.V. DURANTE SU PREPARACION Y ADMINISTRACION.



7.1.5.-AGENTES CONTAMINANTES MAS FRECUENTES.

1.- Medio contaminante: La contaminación puede proceder del aire y en este caso será fundamentalmente por *Acromobacter*, *Flavobacterium* y *Streptomices*, procedentes del agua en este caso se contaminará con *Alcaligenes*, *Serratia* y *Pseudomona sp*; de la piel del propio enfermo estará contaminada por *Clostridium*, *Bacillus*, *S. epidermidis*, de las manos del personal facultativo que puede transportar cualquier germen del hospital.

2.- Naturaleza de la MIV.

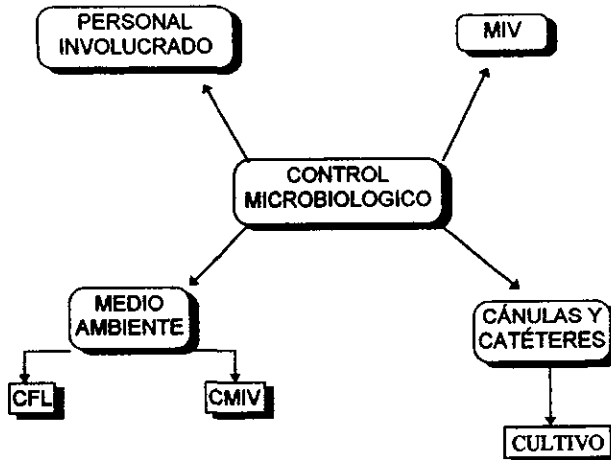
- Solución glucosada al 5%: *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Pseudomonas sp* y *Coliformes*.
- Aminoácidos: *Candida albicans*, *S. aureus*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia* y *Enterococos*.
- Plasma: *Klebsiella sp* y *Serratia sp*.
- Sangre: *Pseudomona sp*, *Acromobacter* y *citrobacter*
- Equipos IV : *S. aureus*, familia de *Klebsiella-Enterobacter-Serratia* y las *Pseudomonas sp*.

7.2.-PROCEDIMIENTOS PARA EL SEGUIMIENTO DEL CONTROL MICROBIOLÓGICO DE MIV.

Las muestras a utilizar para realizar el estudio de contaminación bacteriana serán :

- 1.- Monitoreo ambiental.
- 2.- Muestreo del personal
- 3.- Cánulas y Catéteres-
- 4.- El control del filtro empleado en la preparación o en la administración al paciente.
- 5.- La MIV recién preparada e inmediatamente después de ser administrada.
(Ver figura 6)

FIGURA 6. Diagrama para el seguimiento del control microbiológico.



7.3.- Monitoreo ambiental.

El seguimiento regular de las buenas practicas de manufactura y el proceso de control del área de trabajo, mediante la verificación en el cumplimiento de los estándares microbiológicos, deberá incluir un examen de los atributos microbiológicos de las áreas y equipos. El área de preparación de MIV deberá contar con medidas sanitarias estrictas, siendo importante el evitar corrientes de aire hacia el interior que puedan contaminar la mezcla, por ello deberá contar con inyección de aire filtrado a través de filtros absolutos y con presión positiva, durante todo el proceso de preparación.

Los mismos requisitos serán indispensables en el área donde se realicen las pruebas de control microbiológico, lo que permitirá evitar los resultados falsos positivos. Debe extremarse el control ambiental por contenido de microorganismos viables en el aire (exposición de placas, arrastre de una superficie conocidas o

contenido microbiano de un volumen de aire determinado), limpieza y sanitización del área de trabajo reposición de filtros para aire y verificación de la campana de flujo laminar. De ahí que sea necesario contar con un programa de control ambiental, el cual consistiría en evaluar :

A)- La Calidad microbiológica del área :

- Medio ambiente.
- Superficies.

Un aspecto de la calidad ambiental es el contenido de partículas de aire. Las partículas son significativas debido a que pueden penetrar a la mezcla y contaminarla físicamente o actuar como un vehículo para microorganismos biológicamente hablando.^{(3,9)}}

B).- Filtros HEPA de la CFL:

- Velocidad.
- Integridad
- Patrones de flujo

C).- Los Sanitizantes empleados.

- Placas RODAC.
- Tallado con hisopo.

7.3.1.- Técnicas para la evaluación del control ambiental.

7.3.1.1.- Filtración.

Consiste en recoger las partículas aéreas, haciendo pasar una muestra de aire a través de una membrana filtrante estéril. Este filtro se pone en un soporte destinado a mantener plana la membrana y evitar la filtración. Se aspira a través del filtro un volumen de aire determinado y medido con exactitud. Los filtros se examinan en el microscopio en busca de partículas, polvo o pelusa; o son colocados en medios de cultivo como puede ser: caldo soya tripticasa o caldo tioglicolato e incubarse para detectar la presencia de microorganismos.^{(13)}}

7.3.1.2.- Otro método consiste en la exposición de cajas petri, con medios de cultivo. Esta evaluación permite detectar cualquier desviación de malas prácticas de manufactura.^(13,14)

- a) Los medios de cultivo utilizados es el agar soya tripticasa (AST), y agar dextrosa papa (ADP), antes de utilizarlos se deberá constatar que las pruebas de promoción de crecimiento, prueba positiva y negativa hayan sido satisfactorias.
- b) La placas de exposición son colocadas en el área por evaluar, de acuerdo a : un esquema que indica la posición de las mismas mediante números progresivos. Esta evaluación se realizará antes y durante el proceso de preparación de las MIV; esto con el fin de establecer límites de alerta que permitan tomar medidas correctivas a tiempo.
- c) Las placas serán expuestas de 15 a 30 minutos, dependiendo del índice de contaminación presente en el área.
- d) Las placas son marcadas adecuadamente indicándose área evaluada, fecha de evaluación y tiempo de incubación.
- e) Las placas de AST, se incuban 48 horas a 35-37° C y las placas de ADP, se incuban a 25-27° C, durante 5 días.
- f) Límites de Seguridad. En base a los resultados obtenidos en el área de trabajo de preparación de MIV y durante un período determinado, se establecerán los límites de seguridad que garanticen la confiabilidad de los análisis desarrollados en el área. En caso de que se rebasen los límites de seguridad se recomienda verificar fallas en las técnicas de sanitización, equipos, validación de agentes sanitizantes y frecuencia de sanitización.

7.3.2.- Evaluación de la integridad de los filtros HEPA, de la CFL.

7.3.2.1.- Un método para probar la integridad de los filtros HEPA, es el uso de dioctilftalato (DOP), en aerosol. (Es un compuesto de partículas que van de 1 a 3 micras en tamaño). Una prueba aceptable involucra la introducción de DOP, en aerosol en la corriente ascendente del filtro en una concentración de 80 a 100 microgramos por litro de aire a la velocidad de flujo diseñado; en seguida se examina el lado descendente del filtro con una sonda fotómetro en una proporción de muestreo de cuando menos 1 pie cúbico por minuto.

La sonda examina la cara y el marco completo del filtro en una posición de alrededor de una a dos pulgadas a partir de la cara del filtro. Una sola lectura de la sonda

equivale a .01 % de la prueba por el lado ascendente; se considera como indicativo de una fuga significativa.^{11,12}

7.3.2.2.- Otro método con el que se cuenta es con un contador de partículas digital portátil "CLIMET", sin embargo existe el inconveniente sobre el uso de contadores de partículas ya que si no se introducen partículas de tamaño conocido por el lado ascendente del filtro, no es efectivo para la detección de fugas. Este aparato toma una muestra de aire y la hace pasar a través de un haz de luz y cuando hay partículas, éstas producen un efecto de reflexión, que es analizado mediante la comparación con la luz de otro haz emitido a través de un pequeño orificio. La señal generada es amplificada y nos permite conocer el número de partículas y las dimensiones de las mismas.

7.3.2.3.- Para evaluar la velocidad del flujo de aire se utiliza un anemómetro que nos indique si el flujo presenta un rango de 70 a 110 pies por minuto (0.3 a 0.6 m./seg.) Reducciones significativas en la velocidad pueden incrementar la posibilidad de contaminación, y cambios en la velocidad pueden afectar el flujo laminar del aire.

7.3.3.- Evaluación de sanitizantes.

La limpieza, desinfección de superficies y esterilización de materiales médicos hospitalarios, mas la asepsia de la piel y mucosas, contribuyen a reducir las infecciones nosocomiales y dependen directamente de la calidad de los germicidas o sanitizantes utilizados.

Las soluciones sanitizantes o germicidas, deben ser de diferente composición química y deben de ser empleados en forma alternada y se les debe de terminar su actividad antimicrobiana, ya sea por la prueba de reto microbiano y/o la de coeficiente fenólico. Para ello se emplearán los microorganismos recomendados en la literatura o los microorganismos aislados durante el control ambiental, cuando persista en éste su presencia.

7.4.- Muestreo del personal.

Otra fuente importante de contaminación en la preparación y administración de las MIV, lo constituye el personal que prepara y administra las MIV, (Principalmente las enfermeras), además la propia piel del paciente puede ser fuente de contaminación. En este sentido es necesario una correcta selección y formación del personal dedicada a la preparación y administración. Al seleccionar el personal, se debe hacer un estudio de portadores, pues es conocido el alto índice de sujetos sanos portadores de microorganismos patógenos, siendo protagonistas con gran frecuencia de infecciones nosocomiales, por tanto es importante realizar muestreos mensuales de las manos del personal que participa en la preparación y administración de MIV.

7.4.1- Material

- Tubos con tapón de rosca de 16 X 120 mm.
- Pipetas graduadas de 5 ml.
- Hisopos estériles.

Medios de cultivo:

- AST, . ADP, ARVB, EMB
- Solución amortiguadora de fosfatos o solución salina fisiológica

7.4.1.2.- Metodología:

- a) Humedecer un hisopo estéril en la solución amortiguadora (o solución salina fisiológica) en tubos con 10 ml de solución.
- b) Frotar los dedos particularmente alrededor de las uñas y la palma de la mano, durante un minuto.
- c) Se coloca el hisopo en el tubo cortándolo por la mitad, para evitar al máximo posible contaminación por parte del personal que se encuentre evaluando.
- d) Agitar vigorosamente el tubo
- e) De esta solución se siembra 1 ml por duplicado en cajas Petri, adicionando los medios de agar correspondientes AST, ADP,ARVB.
- f) Incubar de 24 a 48 horas AST y ARVB; a 37 ° C y ADP, a 25° C, durante 5 días.
- g) Contar las colonias y multiplicar por diez para obtener el número de colonias por mano. UFC /mano.

7.5.- Catéteres y cánulas.

Son componentes habituales del sistema de administración IV, puesto que permiten el acceso a la circulación intravascular. Se dispone de dos tipos de sistemas: Cánulas de acero inoxidable y los catéteres de plástico.

La contaminación de uno o varios puntos del circuito que comprende la preparación y administración de las MIV, puede ocurrir en cualquiera de sus fases; asimismo el trombo que rodea la cánula intravenosa, puede servir como foco intravascular para la proliferación y diseminación de microorganismos, y la infección procedente de la herida producida por el cateter o de la propia cánula son las responsables de la mayor parte de las septicemias producidas por la terapia IV.

7.5.1.-Procedimiento

El procedimiento para confirmar el diagnóstico preciso de sepsis relacionada con el catéter en enfermos que reciben NPT, consiste en:

- 1.- Suspender la nutrición que pasa en ese momento y sembrar su contenido:
- 2.-Obtener cultivos sanguíneos periféricos en cuanto se sospeche de sepsis.
- 3.- Sembrar la punta del catéter, previo recambio del mismo, ello se efectúa con técnica estéril.

7.5.2.- Metodología.

La metodología empleada para sembrar puntas de catéteres, es la siguiente:

- a) Se corta un trozo de la punta del catéter y se introduce en caldo BHI (Infusión cerebro-corazón).
- b) Incubar 48 horas, a 37° C. En caso de observar turbidez o crecimiento microbiano
- c) Resembrar en medios de cultivo selectivos y/o diferenciales como: agar gelosa sangre, EMB, manitol, Biggy (En caso de que se sospeche de fungemia). Incubar 24 horas a 37° C.
- d) Si el desarrollo presenta las características de los microorganismos investigados, realizar una tinción de Gram , observar al microscopio para proceder a identificarlos en base a pruebas bioquímicas.

Los microorganismos aislados con mayor frecuencia son: Gram(+) como *S.aureus*, *S.albus*, *S.epidermidis*, así como hongos siempre del género y especie *Candida albicans*, y rara vez microorganismos Gram(-)^(15,16)

7.5.3.-Métodos Alternos.

7.5.3.1 Método de centrifugación.

Debido a que los métodos convencionales son caros y lentos; se propone un método de centrifugación de microorganismos en estabilizantes hidrofóbicos.

Esta técnica se basa en lisis por centrifugación de las colonias en un sistema aislante, donde las mismas se cuentan rutinariamente; se considera positivo cuando el crecimiento de las colonias provenientes de sangre central sea igual a 5 veces o más que el de la sangre extraída periféricamente, lo cual se asocia con mejoría del paciente a las 24 horas del retiro del catéter.⁽¹⁶⁾

7.5.3.2.- Diagnóstico in vitro.

Actualmente se cuenta con un sistema automatizado de detección microbiológica llamado BACT-ALERT, PEDI-BACT; frascos de cultivo aeróbicos y se utiliza para determinar si existen microorganismos aeróbicos y anaerobios facultativos en una muestra de sangre de un paciente del que se sospeche de una bacteremia o fungemia.⁽¹⁷⁾

7.6 PRUEBA DE ESTERILIDAD

Desde el punto de vista farmacéutico un producto estéril es aquel que se encuentra libre de microorganismos y por lo tanto, cuando se administre a un paciente, no ocasionará una respuesta infecciosa. La esterilidad puede entenderse como la eliminación de todas las formas viables de microorganismos, por la realización de un proceso mediante el cuál las células microbianas o sus componentes se remueven o destruyen, de tal modo que ya no sean detectables en medios de cultivo adecuados para su proliferación.

7.6.1.- Prueba de Esterilidad por Membrana.(Efectividad de filtros).

Esta prueba es aplicable a aquellos productos estériles que puedan inhibir el desarrollo bacteriano, a los polvos insolubles y a las presentaciones parenterales de grandes volúmenes.

El equipo de filtración soporta una membrana con una porosidad de 0.22 micras, sobre la cual quedarán retenidas todas las formas viables de microorganismos.

- Una vez que la solución IV. haya pasado a través del filtro enjuagar con varias porciones ya sea de agua peptonada estéril al 0.1% o solución salina estéril, esto con el fin de eliminar cualquier residuo que pudiera permanecer en la membrana y afectar el resultado de la prueba.
- Una vez que ha terminado de drenar todo el líquido se separa la membrana(se abre el filtro) y sosteniéndola con pinzas estériles especiales se corta en dos, introduciendo cada una de las mitades en los tubos con medio tioglicolato (CT) y caldo soya tripticasa (CST) con 10 ml. Cada uno respectivamente.
- Los tubos se incuban a 35°C (CT) y 20-25°C (CST) durante un periodo de tiempo no inferior a 7 días.
- La evaluación e interpretación de los resultados de la prueba se hace mediante la observación de los tubos durante y después del periodo de incubación
- No deben presentar evidencia de crecimiento o desarrollo microbiano, el cual se manifiesta por la desaparición del anillo rosa del medio de CT y por una turbidez lechosa en el medio CST. (18,19,20)

7.6.2.- Prueba de Esterilidad por siembra directa.

El análisis de esterilidad es aplicable a productos que no contengan inhibidores del desarrollo bacteriano.

- Se inoculan 10 tubos conteniendo 15 ml de caldo tioglicolato (CT) con 2 ml. de MIV y otra serie de 10 tubos conteniendo 15 ml de caldo soya tripticaseina (CST). más 2 ml de MIV.
- Mezclar suavemente e incubar durante 14 días a 35 °C los tubos de (CT) Y A 25 °C los de (CST).
- Revisar los tubos a los 3,4,5,7,8 y 14 días de incubación para notar crecimiento microbiano.

Interpretación de resultados.

- La prueba no cumple con la especificación de esterilidad si hay crecimiento en uno o más tubos de los medios inoculados con la muestra (MIV). Esta prueba es tan estricta que generalmente se autorizan hasta dos repeticiones si no cumple con la especificación.
- La prueba cumple con la especificación de esterilidad si no hay crecimiento en ningún tubo de los medios inoculados con la muestra

7.7.- Determinación de mesófilicos aerobios.

En caso de que el paciente presente infección bacteriana por la MIV.(malas técnicas en la preparación o en su administración, violaciones del sistema de administración y fallas en el sistema de filtros.), se propone analizar la MIV de la siguiente manera :

7.7.1.- Método de vertido en placa.

- . Tomar con una jeringa estéril, aproximadamente 5 ml de la MIV remanente o de la que se está administrando en esos momentos.
- Transferir 1 ml de solución i.v. a una caja de petri estéril. Hacer esto por duplicado.
- Vaciar de 15 a 20 ml de agar soya tripticasa (AST), Agar bilis rojo violeta (((coliformes totales) a cada caja. Homogenizar mediante movimientos circulares.
- Hacer un testigo negativo para cada medio para comprobar la esterilidad de este.
- Incubar a 37 °C durante 48 a 72 horas.
- En caso que resulten colonias cuyas características morfológicas correspondan a los microorganismos en estudio, se lleva acabo la resiembra de dichas colonias y se procede a realizar la identificación y el aislamiento.(ver anexo 1,2)

7.8.- Llenado simulado.

Admitiendo que el riesgo de contaminación de las MIV puede darse hasta en el proceso de comprobación de su esterilidad , se sugiere practicar el llenado simulado durante el proceso de elaboración de las MIV.

Se entiende por llenado simulado el envasar medio de cultivo en vez de la MIV , siendo esto una prueba de reto a las condiciones del equipo, el material, la operación y las instalaciones.

Material

Material

- Caldo soya tripticasa.
- Jeringas estériles de 1,3,5,10 ml.
- Bolsas EVA.
- Etiquetas.
- Incubadora

Procedimiento:

- Usando la mejor técnica aséptica y flujo laminar previamente desinfectado con alcohol al 70%. Llenar una bolsa EVA con (CST) en lugar del fluido intravenoso, agregar uno o más aditivos y homogenizar la mezcla.
- Etiquetar la bolsa con la información necesaria de la operación efectuada (fecha y persona que realiza la operación).
- Incubar la bolsa EVA a 37°C durante 7 días.
- Revisar al 3,5 y 7 día de incubación, anotar como contaminación si se observa turbidez en la mezcla.

Interpretación de resultados.

En caso de que la prueba muestre contaminación, se requerirá de una revisión completa de procedimientos; limpieza (sanitización), esterilización en el material y equipo, así como entrenamiento del personal.

7.9.- Kit Addi-Check II para Control de Calidad.

Sistema basado en membrana para el análisis microbiológico de mezclas preparadas. Como los resultados tardan de 7 a 14 días con los métodos tradicionales y las preparaciones se inyectan en horas, se recomienda el uso de este sistema para verificaciones continuas y rutinarias del personal y del medio ambiente dentro de la farmacia hospitalaria.

- Analiza 1 L de dextrosa al 10 % en solo 10 minutos
- La recuperación de niveles bajo de contaminantes es hasta 3 veces mayor que con los métodos de alicuotas.
- Captura y cultiva los microorganismos introducidos durante la preparación ya sea por soluciones contaminadas, técnicas de asepsia deficientes o contaminantes ambientales.²⁴

7.10.- CONTROL DE PIRÓGENOS.

7.10.1.-Definición.

Los pirógenos son productos del metabolismo celular que producen elevación de la temperatura al ser administrados parenteralmente a humanos ó animales.

Esta elevación de temperatura puede provocar reacciones neurológicas graves como convulsiones y aún shock, a veces irreversible, ó que origine secuelas en sistema nervioso central.

7.10.2.- Clasificación.

De acuerdo a su capacidad inherente de producir pirógenos, las bacterias se han clasificado en cuatro grupos:

- a.- Aquellas cuyos productos metabólicos no tienen efecto en la temperatura.
- b.- Las que causan fiebre ligera durante un tiempo corto.
- c.- Las que causan un incremento marcado en la temperatura durante varias horas y
- d.- Las que matan a los conejos o les producen colapso.

Los pirógenos más potentes son los producidos por las bacterias de los géneros *Salmonella* y *Pseudomonas*.

En general los microorganismos vivos tienen mayor capacidad pirogénica que las endotoxinas que liberan cuando las células son destruidas durante la esterilización. Dado que el proceso de esterilización por calor es el que se utiliza generalmente en la fabricación de medicamentos estériles y que este no elimina la presencia de pirógenos en las soluciones parenterales, deben de seguirse las buenas prácticas de manufactura durante la elaboración , para asegurar, que cumplan con los requisitos de calidad establecidos para esta prueba.^{2,3}

7.10.3.- Métodos para detectar Pirógenos.

Las pruebas actuales para detectar pirógenos son el método en conejos y la técnica que emplea lisado de Amebocitos de Limulus. (LAL).

Dado que la prueba en conejos, requiere mayor tiempo, es más difícil de realizar y está sujeta a la variabilidad característica de los animales de prueba, en los últimos años se ha optado por usar el método de LAL. El cual permite detectar con gran sensibilidad y rapidez, la concentración de endotoxinas bacterianas durante el desarrollo de elaboración de soluciones intravenosas. Estas macromoléculas, introducidas en la circulación general, producen un aumento de la temperatura central del organismo que caracteriza el efecto pirotógeno. También provocan escalofríos, cefaleas, disnea y, en ciertos casos, un estado de choque con hipotensión que puede producir la muerte por insuficiencia circulatoria aguda. A nivel celular, se observa agregación plaquetaria seguida de liberación de sustancias vasoactivas y degranulación de los leucocitos que actúan al nivel de los centros termorreguladores del hipotálamo, produciendo hipertermia.⁽²¹⁾

7.10.4.- Desventajas del método de LAL.

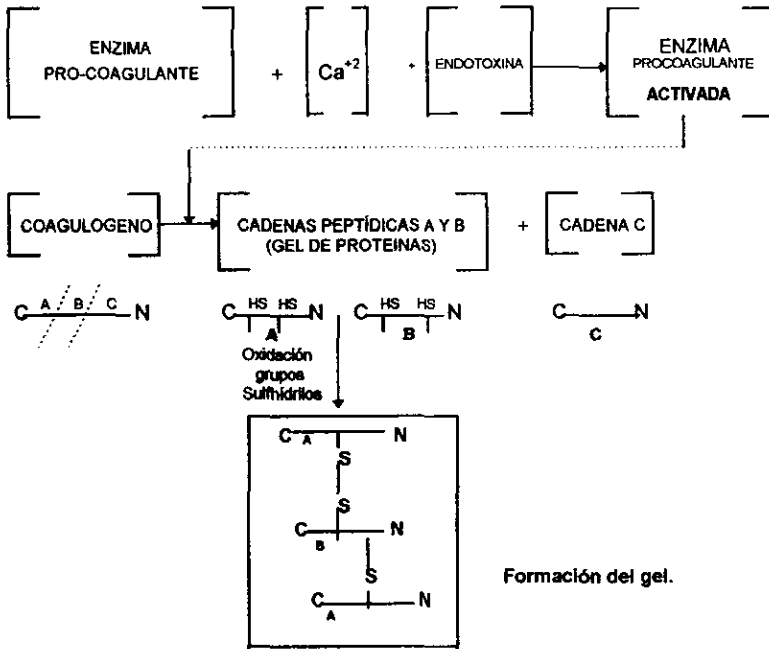
Comparando este método con la prueba en conejos tiene como desventaja el no poner de manifiesto pirógenos que no sean endotoxinas ó sustancias presentes en las muestras a probar, que interfieran con la coagulación de la proteína coagulable de Limulus.

Sin embargo, esta prueba se ha utilizado igualmente y con resultados satisfactorios en SIVGV, en SIVPV, equipos de administración y material de un solo uso.

7.10.5.- Mecanismo de aglutinación.

La prueba de LAL. esta basada en la aglutinación (formación de gel). Para que se realice la reacción de coagulación del lisado de los amebocitos se necesitan cuatro sustancias. Tres de ellas, la enzima procoagulante, las proteínas coagulables o coagulogeno y los cationes calcio, se hallan presentes en el lisado, se inicia la reacción con la presencia de endotoxinas ó pirogénos (lipopolisacáridos) presentes en la muestra. La endotoxina, en presencia del ión calcio activa la enzima procoagulante produciendo la enzima procoagulante activada, la cual cataliza la reacción de desdoblamiento del coagulogeno en tres sub-unidades, de las cuales A y B siguen unidas por enlaces bisulfuros formando el coágulo, y la cadena C, que es la sub-unidad interior del coagulogeno queda libre.⁽³⁾ (ver la figura 6)

Figura 7.-Reacción de Aglutinación



T°C= 37-38°C
 pH = 6-7.5

7.11.- PRUEBA DE PIRÓGENOS.(LAL)

7.11.1.- Material

Reactivos: juego comercial que incluye lisado de Amebocitos de Limulus, endotoxina de *E. coli* y agua apirogénica.

Equipo: baño maria a 37° C ,refrigerador.

Material de vidrio: tubos de 10 x 75 mm estériles y libres de pirógenos, jeringas de insulina y jeringas de 5 ml.

7.11.2.- Metodología.

Preparación de LAL.

- Se reconstituye el liofilizado con agua apirogénica. La mezcla se hace suavemente durante 30 segundos ya que si se agita vigorosamente y se forma espuma se degrada la proteína. En este caso se utilizan 5.2 ml de agua.

- Para los ensayos distribuir 0.1 ml del lisado reconstituido en los tubos pequeños estériles y libres de pirógenos.

Ensayos de muestra y testigos.

Tabla No. 1

MUESTRA	CONTROL POSITIVO	CONTROL NEGATIVO	INHIBIDORES
LAL 0.1 ml + Muestra 0.1 ml de MIV.	LAL 0.1 ml + 0.1 ml. de endotoxina.	LAL 0.1 ml + 0.1 ml de agua apirogénica.	LAL 0.1 ml + 0.1 ml de muestra + 0.1 ml de endotoxina

Endotoxina= 0.5 UE/ML.

Incubar a 37 °C por 60 minutos. Realizar la lectura.

7.11.3.- Lectura de resultados.

Resultado positivo:

- a) se produce un coágulo firme que mantiene su integridad cuando el tubo se invierte 180 °
- b) la muestra se coagula así como el testigo positivo, mientras que el testigo negativo no desarrolla coagulación.

Resultado negativo: se caracteriza por la ausencia total de gel o por la formación de un gel viscoso que no se mantiene integrado al invertir el tubo.

NOTA.

La prueba es válida si los testigos se comportan en forma conveniente y si la sensibilidad de la prueba equivale a lo marcado en la etiqueta o el instructivo del fabricante.

Interpretación.

Una prueba válida y positiva indica la presencia de endotoxina en cantidad suficiente para provocar una respuesta febril si la MIV es transfundida a un paciente.

Precauciones.

- a) No sacar los tubos antes de los 60 minutos de incubación
- b) Invertir totalmente los tubos a 180 ° y no a 45 o 90°.
- c) Tener cuidado de no agitar los tubos adyacentes cuando se efectuó la lectura.

Tabla 2 CONTROL MICROBIOLÓGICO. MUESTREO QUINCENAL

MUESTRA	FECHA	HORA	RESULTADOS		
			Ph. en Env.	S. BH	Plásmos no. identificadas
MIV recién preparada					
MIV después de su admon.					

Tabla 3. CONTROL DEL AREA DE TRABAJO

EXPOSICIÓN DE PLACAS	RESULTADOS		FECHA
	AST(UTC)	ADP(UTC)	
CFL Durante la preparación de MIV			
Espacio donde se ubica la CFL.			

Tabla 4. CONTROL DEL PERSONAL

NOMBRE	RESULTADOS	
	coliformes (ufc/ml)	Mes. aerob. n.o. identificado (ufc/ml)

Tabla 6. Control de Cánulas y Catéteres.

EQUIPO	CULTIVO		HEMOCULTIVO	
	POSITIVO	NEGATIVO	POSITIVO	NEGATIVO
Cánulas				
Catéteres				
NOMBRE DEL PACIENTE				
FECHA Y HORARIO DE ADMON. DE LA MIV				
SINTOMATOLOGIA				
EFFECTOS ADVERSOS				
CAMBIO DE EQUIPO DE PER. FUSION.				
OBSERVACIONES				

Este tipo de control se recomienda realizarlo en caso de que el paciente presente problemas de infección con el uso de cánula o catéter, así como los demás controles establecidos, con el fin de encontrar las posibles causas de dicha infección.

8. ANALISIS.

El control microbiológico realizado en las MIV constituye uno de los controles de calidad más importantes dado el significado que tiene el mantener aditivos, equipos que se utilicen para la administración en condiciones estrictas de esterilidad. Sin embargo, pese a ello; actualmente la elaboración de MIV se lleva a cabo por el personal de enfermería, al cual no se le demeritan sus funciones pero hace falta una seria concientización y entrenamiento sobre el proceso y los riesgos que conlleva la preparación y administración de las MIV.

Otro aspecto importante a considerar es que en muchos hospitales (principalmente en México) la realización de las MIV se lleva a cabo en la unidad de enfermería o junto a la cama del paciente sin los cuidados estrictos de asepsia que se requieren, lo cual puede conducir a problemas graves de infección: porque no hay que olvidar que la terapia intravenosa, se administra fundamentalmente a enfermos graves, inmunocomprometidos y cualquier contaminante en estas circunstancias es capaz de producir alguna infección o complicación.

De allí la importancia de establecer lineamientos en la preparación de MIV. La American Society of Parenteral and Enteral Nutrition ha establecido normas que disponen que la preparación de las MIV sea llevada a cabo en una campana de flujo laminar horizontal (CFL), que la CFL esté ubicada en una central de MIV (CMIV) con presión positiva, que se realicen controles bacteriológicos de la CFL, de la CMIV, y de las MIV en todo su proceso y todo esto sea realizado por farmacéuticos que sigan las buenas prácticas de manufactura con el fin de asegurar la integridad microbiológica de las mezclas intravenosas.^[23,24]

Puesto que para muchos hospitales gubernamentales principalmente el instalar una CMIV resulta muy caro dado que el costo de su implementación es elevado; en los últimos años se ha documentado que el establecimiento de una CMIV resulta un servicio costo/efectivo, ya que por cada unidad monetaria invertida se obtiene un beneficio de 1: 4 unidades además, la repercusiones en beneficio de paciente son mayores.⁽²⁸⁾

Dado que el control microbiológico no es un proceso sistemático que se tenga que realizar diariamente que se prepara una MIV, entre otras razones por el aumento de trabajo que ello implica y por la demora que tendría para la administración al paciente; el control microbiológico tendrá como función primordial prevenir la contaminación en todo el proceso que involucra la preparación y administración de MIV, por tanto admitiendo que el riesgo de contaminación de las MIV puede darse hasta en el proceso de comprobación de su esterilidad, se sugiere aplicar alternadamente un estudio de llenado simulado, el cuál nos va a permitir retar las condiciones del equipo, material, operación e instalaciones utilizadas en la elaboración de las MIV; además se recomienda seguir un programa de control microbiológico el cuál sea realizado quincenalmente o cuando se presente alguna complicación con la terapia intravenosa ; llevando así un estricto control sobre el paciente y la MIV

Con respecto a la utilización de filtros microbiológicos tanto en la preparación como en la administración de MIV, existe controversia ya que se piensa que este puede minimizar o compensar las deficiencias o errores que pudieran ser cometidos durante la preparación de mezclas; sin embargo, esto no es así ya que se reporta en la literatura que aun usando filtros de 0.22 micras suelen permitir la entrada de microorganismos tales como, *P. diminuta*, *Clamidias*, y *Micoplasma*, además de que no impide la contaminación canular lo cuál puede ocasionar serios problemas al paciente en el restablecimiento de su salud.

Por todo lo expuesto anteriormente se considera fundamental una correcta selección y capacitación del personal dedicado a la preparación aunado a un programa de entrenamiento y formación continua a través de cursos, videos o conferencias. (19).

9. CONCLUSIONES.

En base al análisis realizado y a los objetivos planteados se concluye que: al indicar los procedimientos para realizar el control microbiológico en las MIV que se realizan en un hospital y darle seguimiento al análisis microbiológico; permite establecer los parámetros de calidad a seguir en la preparación y administración de las MIV, esto con el fin de evitar alguna complicación o infección que pudiera afectar en el reestablecimiento de la salud del paciente garantizando así la integridad microbiológica y terapéutica de las MIV.

Se indican las diferentes técnicas asépticas que se deben emplear en el muestreo y análisis microbiológico de las MIV, a su vez se propone un programa de monitoreo microbiológico del área, del personal, equipo, medio ambiente y producto terminado, ya que estos pueden ser factores importantes para determinar las fuentes contaminantes así mismo detectar en que parte del proceso se deban hacer los ajustes correspondientes para evitar una posible contaminación futura.

No menos importante es evitar los riesgos de contaminación de las MIV mediante el empleo de técnicas asépticas el contar con una área especializada (CMIV), con condiciones ambientales adecuadas y realizando una buena selección y formación del personal; sujeto a un programa de control microbiológico que mejor se adapte a las políticas y procedimientos del hospital, además de mantener una estrecha comunicación con el equipo de salud implicados con la terapia intravenosa.

Por último se enfatiza que el control microbiológico de las MIV debe ser preventivo y no correctivo por el riesgo que una contaminación de esta naturaleza implicaría para el paciente.

10.- BIBLIOGRAFIA.

- 1) Hernández Ch,Y; Villegas N.Y, Torres J. 1995. Estudio de la estabilidad de una MIV de Cefazolina sódica con heparina sódica en solución salina fisiológica y dextrosa al 5 %.Revista Mexicana de Ciencias Farmacéuticas. Vol. 26 No. 24. pp. 109, 124.
- 2) Cejudo U.B., Garzón S.L. 1993. Control Biológico de Productos Farmacéuticos. Ed. UAM Xochimilco. pp. 11-13; 60-65.
- 3) Jiménez T. 1983. Mezclas intravenosas y nutrición artificial, 2a.edición.Valencia,Esp. pp. 46-47, 97, 103-104, 312-313.
- 4) Cartensen, J. T. 1990. Drugs Stability: Principles and Practices; Drugs and the pharmaceutical Science. V.43, Marcel Dekker, USA, pp. 9, 29, 34.
- 5) Remington´s, Pharmaceutical Science. 1985. 17th Ed. Mark pub,Pensilvania, USA pp. 1542-1580.
- 6) Helman J. 1982. Farmacotécnia teórica y práctica. Tomo VIII. Edit. Continental, México, pp. 2406-2407.
- 7) Rombeaw C.1986. Clinical Nutrition.and Parenteral Nutrition.Vol. 2, Wb Saunders Company, pp.283-285.
- 8) Organización Panamericana de la Salud. 1997. Serie de Medicamentos esenciales y tecnología. Guía para el desarrollo de servicios farmacéuticos hospitalarios: preparación de mezclas de uso intravenoso. pp. 2,5,13-15,
- 9) Instructivo de Operación y Mantenimiento de Campanas de flujo laminar. 1993. Vecchi Ingenieros, pp, 1-9.
- 10) Hernández B, Posada G, Oropeza C, Maya M.1997. Manual de Prácticas de Mezclas Intravenosas y Nutrición Parenteral. FES Cuautitlán UNAM, pp 2,7,14
- 11) Gennaro A. 1987. Farmacia de Remington, 17^a ed. Panamericana Argentina, pp 2069-2074.
- 12) Norma sobre medicamentos estériles fabricados a partir de procesos asépticos. FDA. Asociación Farmacéutica Mexicana. 1993, pp 4-7.

- 13) Dony, J. N., Diding, A. L.. 1990. Validation and Environmental Monitoring of aseptic processing; *Journal of Parent. Science Technology*. Vol. 14, pp. 273-274.
- 14) Varea C., Bardan G.1990. Environmental Microbiological Contamination in an intravenous mixture unit. *Farmacia Clínica*. Vol. 7 (Jun-Feb). Abstract.
- 15) CIPAM. 1992. Guía para el control microbiológico de medicamentos. México, pp 27, 25, 56, 59.
- 16) Villazón A. 1993. Nutrición enteral y parenteral. Edit. Interamericana, Mc. Graw Hill, 1ª. ed. pp. 89-92, 156-160.
- 17) Organon Tecnika. Bact/Alert Pedi Bact. Frasco de cultivo aeróbico. Diagnóstico in vitro. 1996.
- 18) The united States Pharmacopea. USP XXI/NFXVI, 16th. USA 1994, p.p 1156-1160.
- 19) Levchuck, Jw, Nolly R.J.1988. Method for testing the sterility of total nutrient admixtures. *Am. J Hosp Pharm Jun*, 45(6) 1311-1316.
- 20) NCCLVP.1978. Recommended procedures for in-use testing of large volume parenterals suspected of contamination or of producing a reaction in a patient. *Am. J Hosp Pharm*. Vol 35: pp 679-680.
- 21) Pradeau Dominique.1998. Análisis Químicos Farmacéuticos de medicamentos. Edit Limusa; 1ª ed. pp 858-864.
- 22) Santell, J.P, Kamalich R.F.1996. National survey of quality assurance activies for pjarmacy-prepared sterile products in hospitals and home facilities-1995. *Nov 1;53(21)*: pp 2591-2602.
- 23) Brouse G.1998. Mesa redonda: Nutrición Parenteral. *AQFU: Revista*, No. 22, pp 1-2.
- 24) <http://www.aqfu.org.uy>.
- 25) <http://www.millipore.com/analytical/catalog/es/>.
- 26) Organización panamericana de la salud. 1997. Serie de medicamentos esenciales y tecnología. Guía para el desarrollo de servicios farmacéuticos hospitalarios: Comité de control de infecciones hospitalarias pp 12.

GLOSARIO

ABREVIATURAS.

AST	Agar soya tripticaseina.
ADP	Agar dextrosa papa.
ARVB	Agar rojo bilis-violeta.
BHI	Infusión cerebro-corazón.
CFL	Campana de Flujo Laminar
CFL-H	Campana de Flujo Laminar Horizontal.
CST	Caldo soya tripticasa
CT	Caldo tioglicolato.
CMIV	Central de Mezclas Intravenosas.
DOP	Diocetilftalato.
EMB	Eosina azul de metileno.
EVA	Etil Vinil Polietileno
HEPA	High efficiency particulate air.
LAL	Lisado de amebocitos de Limulus.
MIV	Mezcla Intravenosa.
ML	Mililitro.
UFC	Unidad formadora de colonia.
SIVGV	Solución intravenosa de gran volumen.
SIVPV	Solución intravenosa de pequeño volumen.

ANEXO

ESTA TESIS NO DEBE
SALIR DE LA BIBLIOTECA

Características morfológicas y microscópicas de *P. aeruginosa* en medios selectivos.

Medio de cultivo	Morfología de las colonias	Morfología microscópica	Fluorescencia en UV
A. Cetrimida	verdosas	bastones Gram (-)	verdosas
A. Ps. para F.	incoloras o amarillas		amarillas
A. Ps para P	verdosas		azules

Prueba de oxidasa positiva en todos los medios. Se transfieren las colonias desarrolladas sobre un disco de papel filtro previamente impregnado con clorhidrato de N,N,dimetil-p-fenilendiamina. Si no se presenta un cambio de color rosa o púrpura la prueba es negativa.

Características morfológicas de *Salmonella* en medios selectivos

Medio de Cultivo	Morfología de las colonias
verde brillante	colonias pequeñas transparentes, incoloras o rosa o blanco opaco; rodeadas de un halo rosa o rojo.
xilosa, lisina, desoxicolato (XLD)	colonias rojas o sin centro negro
sulfito bismuto	colonias negras o verduzcas con brillo o precipitación de bismuto.

Realizar las bioquímicas correspondientes TSI, LIA, UREA

Características morfológicas de Escherichia coli en medios selectivos

Medio de cultivo	Morfología de las colonias	Morfología microscópica
MacConkey	colonias rosas	bastones Gram(-)
EMB	colonias verdes con o sin brillo metálico	

Realizar las pruebas bioquímicas correspondientes de IMViC

Características Morfológicas de S. aureus en medios selectivos

Medio de Cultivo	Morfología de las colonias	Morfología microscópica
Vogel Johnson	negras con halo amarillo	cocos Gram (+) (en racimos)
Sales manitol	amarillas con halo amarillo	
Baird parker (diferenciador)	negras transparentes con halo claro	